
This is the **published version** of the bachelor thesis:

Ruíz Zambrano, Alba; López Medina, Lluna; Martí Nicolovius, Margarita,
dir. Efectes de la restricció calòrica en l'aprenentatge i la memòria durant
l'envelliment. 2016. 66 pag. (954 Grau en Psicologia)

This version is available at <https://ddd.uab.cat/record/169215>

under the terms of the  license

TREBALL DE FI DE GRAU

Universitat Autònoma de Barcelona

Alba Ruíz Zambrano (NIU: 1335308)

Lluna López Medina (NIU: 1333029)

Grau en Psicologia

Curs 2015-16

Dirigit per Margarita Martí Nicolovius

EFFECTES DE LA RESTRICCIÓ CALÒRICA EN L'APRENTATGE I LA

MEMÒRIA DURANT L'ENVELLIMENT

Alba Ruíz Zambrano, Lluna López Medina

Resum:

El procés d'envelliment s'acompanya generalment de declivi cognitiu, ja que l'hipocamp (HPC) i l'escorça prefrontal (CP), àrees involucrades en l'aprenentatge i memòria, mostren deteriorament neuronal. Actualment hi ha evidències que la dieta amb restricció calòrica (RC) allarga l'esperança de vida i preveu l'aparició de patologies, però caldria més investigació per aclarir en quina mesura beneficia a les funcions cognitives en la vellesa. En aquest context, el present estudi investiga si la dieta amb RC és un factor protector d'aquest deteriorament cognitiu. Per això, es van utilitzar tres grups experimentals, un de rates envellides en condicions de RC, un d'envellides amb alimentació *ad libitum* (AL), i un grup control de rates joves. Es van realitzar dues proves conductuals que avaluen aprenentatge i memòria, el Laberint aquàtic de Morris (LAM), tasca de tipus espacial dependent de l'HPC, i la Discriminació Simple d'Olor (DSO), tasca de tipus olfatori dependent de CP. Els resultats van mostrar que a l'adquisició del LAM, les rates joves trigaven menys en trobar la plataforma que les rates envellides però en la prova de test que es va fer a les 72 hores, les rates envellides amb dieta de RC va mostrar un record de la ubicació de la plataforma similar a les rates joves i millor que les rates alimentades AL. Per tant, totes les rates, amb independència de l'edat, aprenen però les joves ho fan més ràpidament, i només les rates joves i les envellides en RC tenen memòria de l'aprenentatge. En la DSO no s'han trobat diferències significatives entre grups, totes aprenen i recorden de manera similar, si bé les rates velles del grup RC van mostrar un millor record que les del grup AL en el test que es va fer a les 72 hores. Per tant, la dieta amb RC podria ser beneficiosa per atenuar el declivi de les funcions cognitives durant el procés de l'envelliment, almenys pel que fa a la memòria de tipus espacial dependent de l'hipocamp.

Paraules clau: alimentació *ad libitum*, restricció calòrica, aprenentatge i memòria, vellesa, declivi cognitiu, laberint aquàtic de Morris, discriminació simple d'olors.

Abstract.

The aging process usually is accompanied by cognitive decline because the hippocampus (HPC) and the prefrontal cortex (CP), areas involved in learning and memory, show neuronal deterioration. Nowadays there are evidences which demonstrate that diet with caloric restriction (RC) extends life expectancy and prevents the development of disease but it is necessary additional research to clarify how much this diet benefits the cognitive functions in old age. In this context, the present study investigates whether RC diet is a protective factor for this cognitive deterioration. For that purpose, three experimental groups were used, aged rats in RC conditions, aged rats fed *ad libitum* (AL), and young rats. Two behavioural tasks were done to assess learning and memory, the Morris Water Maze (LAM), a spatial hippocampal-dependent task, and the Odor Discrimination Task (DSO), an olfactory prefrontal-dependent task. In the acquisitions phase of LAM, the results showed that young rats found the platform faster than the aging rats but 72 hours later, the aging rats with RC diet remembered the platform location similarly to young rats and better than the AL in the prove test. Therefore, regardless of age, all the rats learn the LAM but young rats were faster than the elders and only the young rats and the old rats with RC diet remember what they have learned. In DSO no significant differences were found between groups, all of them learn and remember the task similarly, although the aging rats with RC diet showed a better memory than the AL group in the 72 hours test. Therefore, the RC diet may be beneficial to attenuate the cognitive impairment that occurs during the aging process, at least for hippocampal-dependent spatial memory.

Key words: ad libitum food, caloric restriction, learning and memory, aging, cognitive decline, Morris water maze, odor discrimination task.

1. INTRODUCCIÓ

Des de mitjans del s. XX, a causa de l'augment de la natalitat i la disminució de la mortalitat associat als avenços mèdics, hi ha hagut un increment de la població senil i, com a conseqüència, un increment de les malalties que s'acompanyen de deteriorament cognitiu. El procés d'envelliment suposa el principal factor de risc pel desenvolupament de malalties neurodegeneratives i demències, com l'Alzheimer, que té una prevalença del 50% en adults majors de 85 anys (Izquierdo, 2001; Bishop, Lu & Yankner, 2010; Yankner, Lu & Loerch, 2008). Per tant, conèixer els mecanismes biològics de l'envelliment pot oferir la possibilitat de retardar l'afectació de les funcions cerebrals típica d'aquesta etapa de la vida.

Les alteracions en la memòria i en l'aprenentatge que es produeixen durant l'envelliment són conseqüència de canvis morfològics i fisiològics de l'hipocamp (HPC) i del còrtex prefrontal (CP), les àrees implicades en aquestes funcions cognitives. Tot i així, el curs d'aquests canvis dependrà, principalment, d'una interacció entre factors genètics i ambientals. Per aquest motiu, investigar els diferents factors que podrien disminuir el risc a patir demències, com, per exemple, la dieta que ingerim al llarg de la vida, es converteix en un repte de la neurociència actual (per una revisió veure Izquierdo, 2001; Morrison & Baxter, 2012; Gallagher, Stocker & Koh, 2011).

L'estudi que presentem té com a objectiu principal determinar si la dieta amb restricció calòrica (RC), definida com la reducció del consum de calories sense afectar l'aportació dels nutrients essencials, és un factor protector davant el deteriorament cognitiu en la vellesa. Els apartats que segueixen a continuació justifiquen el nostre treball a partir d'informació extreta de diversos articles sobre l'envelliment cognitiu, els circuits implicats en la memòria i l'aprenentatge i la dieta amb RC. A continuació es presenten els antecedents experimentals, la hipòtesi de partida, els objectius plantejats i una breu explicació de la metodologia duta a terme.

1.1. L'envelliment cerebral i el deteriorament cognitiu

L'envelliment cerebral és un procés fisiològic que es dona en totes les espècies de mamífers i fa referència a la pèrdua de la capacitat d'adaptació a qualsevol canvi de

l'entorn, necessària per poder relacionar-te amb els altres de forma satisfactòria (Izquierdo, 2001). A partir d'estudis neuroanatòmics i neurofisiològics, al llarg del temps, s'han pogut observar els canvis que produeix l'envelliment en el sistema nerviós central (SNC) com serien la disminució del pes i volum cerebrals, l'atròfia cortical, la pèrdua de neurones corticals i d'alguns nuclis subcorticals, la reducció dels circuits neurals i la disminució de la plasticitat sinàptica, fenomen que fa referència a la capacitat del cervell per formar noves sinapsis o modificar les ja existents davant d'estímuls ambientals intensos (Izquierdo, 2001; Bishop, Lu & Yankner, 2010; Yankner, Lu & Loerch, 2008). Tot i així, actualment es coneix que la pèrdua de neurones per l'envelliment és mínima i que el deteriorament cognitiu es produeix bàsicament per una disminució dels contactes sinàptics que provoca una menor connexió i interacció entre àrees corticals (Bishop, Lu & Yankner, 2010; Yankner, Lu & Loerch, 2008). Precisament, durant l'envelliment s'observa una disminució del factor de creixement insulínic tipus 1 (IGF-1), proteïna relacionada amb la formació i el manteniment de connexions neuronals (Shi, Adams & Brunso-Bechtold, 2007).

Aquesta disminució de les connexions sinàptiques és degut a canvis en l'expressió gènica. Però, a banda de provocar alteracions en les sinapsis relacionades amb la memòria i l'aprenentatge, també s'ha detectat una reducció dels gens involucrats en la potenciació a llarg termini (LTP), fenomen que fa referència a una intensificació duradora en la força de la sinapsi en conseqüència a una estimulació d'alta freqüència que indueix la plasticitat sinàptica. Així mateix, s'observa una disminució en l'expressió dels gens relacionats amb la regulació del calci i amb el metabolisme energètic mitocondrial que es dona en resposta a les mutacions del DNA i a l'estrès oxidatiu, el qual és un cúmul de radicals lliures que es formen a partir de les reaccions químiques del nostre organisme i que té un efecte tòxic que provoca la mort neuronal (Yankner, Lu & Loerch, 2008). En estudis amb ratolins Knock-out, una tècnica basada en la inactivació d'un gen per conèixer la seva funció, s'ha observat que aquesta disminució de la funció mitocondrial disminueix l'esperança de vida i perjudica la salut de l'individu (per una revisió veure Izquierdo, 2001; Yankner, Lu & Loerch, 2008). Per tant, els mecanismes de resistència a l'estrès oxidatiu durant la vellesa poden ser un factor de protecció davant els trastorns neurodegeneratius (Izquierdo, 2001).

Tots aquests canvis comporten un deteriorament progressiu de les funcions cognitives, sobretot de la memòria i l'aprenentatge, degut a l'afectació d'estructures com l'HPC i el CP (Yankner, Lu & Loerch, 2008; Sharma, Rakoczy & Brown-Borg, 2010).

1.2. Efectes de l'envelliment en els circuits cerebrals involucrats en l'aprenentatge i la memòria

L'aprenentatge és un procés mitjançant el qual s'adquireix coneixement de l'entorn i la memòria, la retenció d'informació. L'aprenentatge comporta canvis en el SN que originen modificacions en la conducta perdurables en el temps; per tant, com més plàstic sigui el SN més possibilitats d'aprenentatge i de retenció de la informació. El CP i l'HPC són dos circuits cerebrals involucrats en funcions cognitives com l'aprenentatge i la memòria. El CP, situat al lòbul frontal, es relaciona amb la memòria de treball, la qual és a curt termini. Aquest tipus de memòria fa referència a memòria temporal i és la que permet mantenir informació recent de l'entorn, manipular-la i combinar-la amb les experiències passades. Pel que fa a l'HPC, situat a la part medial del lòbul temporal, està relacionat amb la memòria declarativa o explícita, la qual és a llarg termini i l'evocació de la informació es fa conscientment. Aquest tipus de memòria es divideix en dues categories: la memòria episòdica i la semàntica; la memòria episòdica, la qual té a veure amb recordar fets en un context i espai determinats, sol ser molt vulnerable a l'envelliment i inclou la memòria espacial (per una revisió veure Sharma, Rakoczy & Brown-Borg, 2010; Bizon, Foster, Alexander & Glisky, 2012; Roberson et al., 2012).

S'han observat canvis a nivell cel·lular i sinàptic en aquests circuits cerebrals que estan associats al declivi cognitiu que es produeix durant l'envelliment (per una revisió veure Morrison & Baxter, 2012).

1.2.1. L'Hipocamp

La formació hipocampal (FH), que es localitza a la part medial del lòbul temporal, està composta pel gir dentat (GD), l'HPC pròpiament dit (inclou CA1, CA2 i CA3) i el

subículum (Sub) (veure la figura 1) (Shi, Adams & Brunso-Bechtold; 2007). La FH és una regió cerebral relacionada amb l'aprenentatge i la consolidació de la memòria (Kennard & Woodruff-Pak, 2011) i és una de les primeres estructures en mostrar signes d'atròfia en l'envelliment fenomen que sembla contribuir al declivi cognitiu (Izquierdo, 2001).

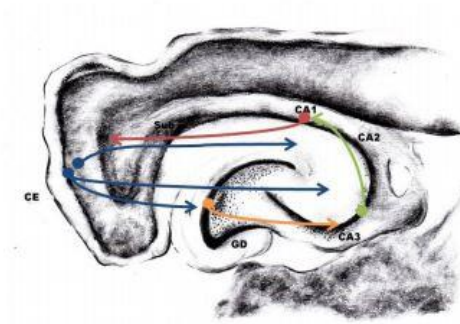


Figura 1: Formació hipocampal.

En la imatge es representen les diferents parts de la Formació Hipocampal (FH) i les seves connexions. Podem observar el gir dentat (GD), les àrees CA1, CA2 i CA3 de l'HPC, el Subículum (Sub) i l'escorça entorrinal (CE). (Adaptada de Olivares, Juárez & García, 2015)

L'HPC és una estructura amb una alta plasticitat sinàptica, crítica per què tingui lloc els processos d'aprenentatge i memòria. Per a què es doni aquesta plasticitat és necessària la inducció i posterior manteniment del mecanisme de LTP, que suposa un enfortiment perllongat de l'activitat de les sinapsis. Per induir LTP cal l'activació de receptors N-metil-D-aspartat (rNMDA) i receptors de l'àcid α -amino-3-hidroxi-5-metil-4-isoxazolpropionat (rAMPA), dos tipus de receptors glutamatèrgics. L'activació de rNMDA en la membrana post-sinàptica permet induir la LTP provocant una entrada de calci que activa als rAMPA. Aquests receptors augmenten la resposta del neurotransmissor glutamat i mantenen la LTP induïda per rNMDA. D'aquesta manera s'aconsegueix la despolarització de la neurona post-sinàptica i la producció de potencials post-sinàptics excitatoris (Sharma, Rakoczy & Brown-Borg, 2010). A més a més, en aquesta estructura s'ha observat que es produeixen noves neurones durant l'adulthood en molts dels vertebrats, és el que anomenem neurogènesi i suposa un dels mecanismes de plasticitat sinàptica més rellevants del SNC. La funció d'aquestes noves cèl·lules és desconeguda però podrien estar involucrades en l'aprenentatge i la memòria (per una revisió veure Gould, Beylin, Tanapat, Reeves i Shors, 1999; Speisman et al., 2013). En aquest sentit, Gould i col·laboradors (1999) van demostrar que la neurogènesi en l'edat adulta es

promovia en el GD com a resposta a l'entrenament en tasques d'aprenentatge que requerien l'HPC. És a dir, tant la neurogènesi com la LTP són factors que contribueixen a la plasticitat neuronal i que permeten l'aprenentatge i la memòria (Nabavi et al., 2014).

Durant l'envelliment es produeixen canvis moleculars en les espines dendrítiques i en el nombre de sinapsis, les més vulnerables són les perforades en l'àrea CA1 i el GD, hi ha una reducció de rNMDA i rAMPA i una desregulació del calci que semblen contribuir al declivi cognitiu. Aquests canvis correlacionen amb la reducció dels potencials postsinàptics excitatoris i amb l'alteració de la capacitat d'aprenentatge (per una revisió veure Morrison & Baxter, 2012; Yankner, Lu & Loerch, 2008; Kennard & Woodruff-Pak, 2011). Tot i així, el nombre de neurones es preserva durant l'envelliment normal (Samson & Barnes, 2013). En conjunt, tots aquests canvis suggereixen modificacions en la plasticitat cerebral dins de l'HPC envellit. Diverses investigacions han intentat trobar la causa d'aquesta alteració i les dades que s'han trobat suggereixen que hi ha una reducció dels mecanismes epigenètics que alteren la transcripció dels gens relacionats amb la plasticitat (Yankner, Lu & Loerch, 2008). En aquest sentit, s'ha observat una disminució del factor de transcripció pCREB (element de resposta a AMPc fosforilat) en l'HCP, un factor de transcripció relacionat amb la formació de memòries a llarg termini i la plasticitat cerebral (Countryman & Gold, 2007). A part de les alteracions en les sinapsis, durant l'envelliment també s'observen alteracions en la neurogènesi. Més concretament, els nivells de neurogènesi es redueixen, fet que també podria contribuir al deteriorament cognitiu propi d'aquesta etapa de la vida (Gould, Beylin, Tanapat, Reeves & Shors, 1999; Kennard & Woodruff-Pak, 2011).

A nivell neuroanatòmic, una possible causa del deteriorament cognitiu seria el canvi en el volum de l'HPC durant la vellesa. Concretament, es va observar que la reducció del volum del CA3 i el GD correlacionava amb el deteriorament de la memòria. Aquest deteriorament també està relacionat amb la reducció de la substància blanca en la via perforant que connecta CE amb GD (per una revisió veure Samson & Barnes, 2013; Morrison & Baxter, 2012).

Aquests canvis a nivell del SNC provoquen que, al realitzar tasques mnemòniques, en persones grans l'activació de l'HPC sigui més reduïda que en persones joves

(Yankner, Lu & Loerch, 2008). Tot i així, les persones d'edat avançada tendeixen a activar ambdós hemisferis en comptes d'un com els més joves, fenomen conegut com a pèrdua d'asimetria hemisfèrica. Això, suposa un mecanisme de compensació en cervells envellits, en els quals hi ha hagut una disminució del nombre de sinapsis (Bishop, Lu & Yankner, 2010; Yankner, Lu & Loerch, 2008; Samson & Barnes, 2013).

1.2.2. Còrtex Prefrontal

El CP se situa a la part més anterior del lòbul frontal i les seves àrees principals són: el CP dorsolateral (CPFDL), el CP ventromedial (CPFVM) i el CP orbitofrontal (CPFOBF) (veure la figura 2). El CPFDL és l'àrea implicada en la memòria de treball, entre altres funcions com el raonament abstracte, l'atenció, la presa de decisions i la capacitat de planificar. El CPFVM està involucrat en la canalització de la motivació i de les emocions tenint en compte el context. Per últim, el CPFOBF està relacionat amb la presa de decisions regulada per un component emocional (Jodar et al., 2013).

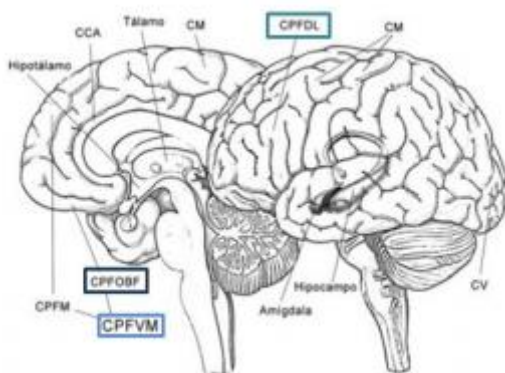


Figura 2: El Còrtex Prefrontal i les seves àrees.

En aquesta figura s'observen diferents estructures i àrees del còrtex prefrontal (CP). En el lòbul frontal, al CP, es troben remarcades les localitzacions del CPFDL, CPFVM i el CPFOBF (Adaptada de Carretié, López-Martín & Albert, 2010)

En aquesta àrea és important que romangui intacte el fenomen de la plasticitat sinàptica i les connexions entre el CP i altres àrees cerebrals (rep aferències del nucli talàmic i del sistema límbic; envia eferències al nucli caudat, putamen i nucli accumbens) per a què la nova informació es pugui integrar al coneixement previ i,

per tant, que no es vegi afectada la memòria de treball (Bizon, Foster, Alexander & Glisky, 2012; Morrison & Baxter, 2012).

En l'envelliment normal es produeixen múltiples canvis a nivell del CP que explicarien el declivi cognitiu en aquest tipus de memòria. Per una banda, s'observa una disminució del volum del CPF DL i de substància grisa com a conseqüència a la pèrdua sinàptica pròpia de la vellesa. Concretament hi ha una reducció del volum de l'àrea 46 (a la capa 3), produïda per canvis morfològics en les espines dendrítiques, la disminució del nombre d'espines i la seva densitat. Les sinapsis que són més vulnerables en aquesta àrea són les glutamatèrgiques axoespinoses. La plasticitat sinàptica es veu perjudicada amb aquests canvis que es produeixen a nivell cel·lular i que alteren les sinapsis (per una revisió veure Morrison & Baxter, 2012; Samson & Barnes, 2013).

Per altra banda, com a resultat de l'alteració de la mielina de les neurones de l'àrea 46, es produeix una desconexió entre el CPF DL i les altres regions del cervell implicades en el procés de memòria. Aquesta disminució de la substància blanca correlaciona amb canvis en les funcions executives, memòria a curt termini i velocitat de processament (Morrison & Baxter, 2012; Yankner, Lu & Loerch, 2008; Samson & Barnes, 2013; Sharma, Rakoczy & Brown-Borg, 2010).

En conseqüència, davant d'una tasca que requereix memòria de treball, el CP s'activa en menor mesura en persones grans en comparació amb persones més joves, tot i que també s'hi observa pèrdua d'asimetria hemisfèrica com a mecanisme compensatori, igual que en l'HPC (Yankner, Lu & Loerch, 2008; Bizon, Foster, Alexander & Glisky, 2012).

1.3. Efectes de la RC sobre l'envelliment cerebral i cognitiu

Hi ha diversos factors ambientals que afecten la plasticitat sinàptica de l'HPC i del CP i que contribueixen al deteriorament cognitiu en la vellesa. Tot i així, en aquest estudi ens centrarem a analitzar els efectes conductuals que produeix la dieta amb RC sobre dues tasques que requereixen la integritat d'ambdues estructures ja que són molt sensibles al procés d'envelliment. La dieta amb RC és l'única intervenció coneguda que augmenta l'esperança de vida en moltes espècies i s'ha observat que

té efectes beneficiosos sobre les funcions cerebrals i sobre les patologies degeneratives. Més concretament, permet prevenir els canvis en l'expressió gènica dependents de l'edat, redueix l'atròfia cerebral i afecta de forma favorable a l'aprenentatge i la memòria (Bishop, Lu & Yankner, 2010).

1.3.1. Efectes cerebrals

Un dels efectes que s'han observat de la dieta amb RC és que promou l'expressió de múltiples gens, 25% dels quals estan implicats en la plasticitat sinàptica. A més a més, augmenta l'activitat sinàptica entre circuits neuronals, disminueix els nivells d'estrès oxidatiu en l'HPC, augmenten els nivells de pCREB i IGF-1 i millora la supervivència de les cèl·lules gials del GD (Murphy, Pereira & Thuret, 2014). Per altra banda, la generació de factors neurotròfics que actuen com a neuroprotectors, com seria el BDNF, un factor neurotròfic derivat del cervell necessari per mantenir la neurogènesi en l'HPC, i els canvis en la densitat de receptors per Neuropèptid Y (NPY) promouen la neurogènesi i la plasticitat de l'HPC (per una revisió veure Murphy, Pereira & Thuret, 2014; Prolla & Mattson, 2001).

Aquest tipus de dieta també manté els nivells de receptors pel glutamat que normalment disminueixen amb l'edat augmentant la seva expressió en l'HPC, fet que permet revertir la disminució de LTP, típic en la vellesa. Així mateix, atenua la reducció dels nivells de proteïnes sinàptiques, sobretot en la subregió CA3 de l'HPC. Aquestes proteïnes permeten que es dugui a terme la neurotransmissió excitatòria i són la base de l'aprenentatge i la memòria dependent d'HPC (per una revisió veure Murphy, Pereira & Thuret, 2014).

La majoria d'aquests efectes calòrics estan mitjançats pels gens de la família sirtuin. Un dels gens implicats seria el SIRT1 que tant pot tenir efectes beneficiosos com perjudicials en el cervell. Pel que fa als beneficis, s'ha observat que l'augment de SIRT1 protegeix de la degeneració dels axons després d'una lesió, de la neurodegeneració i del tòxic amiloid- β . Per altra banda, en quant als efectes negatius, s'ha observat en ratolins knock-out que, al tenir inhibït el gen SIRT1, es reduïa l'estrès oxidatiu i augmentava la neuroprotecció (Bishop, Lu & Yankner, 2010).

1.3.2. Efectes cognitius

Els efectes de la dieta amb RC que es produeixen a nivell cerebral impliquen canvis cognitius. En el procés de l'envelliment, la dieta amb RC podria actuar com a neuroprotector reduint o evitant el deteriorament cognitiu ja que múltiples estudis han mostrat beneficis en la memòria i l'aprenentatge. Concretament, en estudis amb rosegadors adults, s'ha observat que la dieta amb RC pot prevenir el deteriorament cognitiu i ajudar a preservar la memòria espacial i la memòria de treball (per una revisió veure Murphy, Pereira & Thuret, 2014). Pel que fa a un estudi amb humans en el que hi havia un grup en condició de dieta amb RC i un control, es va observar que el grup que havia reduït la ingesta de calories va augmentar la seva memòria en comparació amb el grup control, especialment la memòria verbal (per una revisió veure Murphy, Pereira & Thuret, 2014).

A més, els efectes de la dieta hipocalòrica també s'han estudiat en relació a la malaltia d'Alzheimer, una malaltia neurodegenerativa que es caracteritza per problemes en l'aprenentatge, la memòria i les funcions executives. Concretament, s'ha observat que actua com a factor protector pel desenvolupament d'aquesta malaltia (per una revisió veure Murphy, Pereira & Thuret, 2014).

2. HIPÒTESIS I OBJECTIUS

L'objectiu del present treball és estudiar els possibles efectes beneficiosos de la dieta amb RC en rates envellides i la seva relació amb l'aprenentatge i la memòria. Partint d'aquest objectiu i de la informació prèviament exposada ens hem plantejat com a hipòtesi inicial que el declivi cognitiu que es produeix durant l'envelliment normal podria estar modulats pel nivell de calories ingerides al llarg de la vida. D'aquesta manera, els objectius específics són:

- Avaluar els efectes de l'edat en l'execució d'una tasca dependent de l'HPC com és el Laberint aquàtic de Morris (LAM) en comparació a rates joves.
- Avaluar els efectes de l'edat en l'execució d'una tasca dependent del CP com és la discriminació simple d'olors (DSO) en comparació a rates joves.

- Comprovar si una dieta amb RC redueix el dèficit de memòria que es pot observar en les dues tasques, LAM i DSO, en les rates envellides.

3. **MÈTODE**

3.1. **Subjectes experimentals i obtenció de mostres**

Per dur a terme aquest estudi es va utilitzar una mostra de 47 rates mascles Wistar que es van dividir en dos grups de rates envellides (24-27 mesos d'edat) segons si se'ls hi feia dieta amb RC (Old_RC; n=19) o menjaven el que volien (Ad Libitum; Old_AL; n=12) des dels quatre mesos d'edat, i un grup de control de rates joves (Young, 3-4 mesos d'edat; n=16) que no van ser sotmeses a control alimentari excepte durant la realització de la tasca de la DSO (veure apartat 3.3.2). Diàriament es controlava el seu pes i el seu estat de salut per prevenir que no patissin cap alteració deguda a l'estat de privació.

Aquestes rates han estat criades en el laboratori de Psicobiologia de la Universitat Autònoma de Barcelona, on s'allotjaven en parelles en gàbies de nidificació de plàstic amb el terra de serradures i cobertes amb barres metàl·liques. A més a més, durant la investigació, es van mantenir sota condicions controlades de temperatura (20-23°C) i humitat (40-70%), amb un cicle de 12h de llum i fosc (llum de 8 a 20h i fosc de 20 a 8h). Durant la setmana prèvia a l'inici de la fase experimental es va sotmetre a les rates de forma diària a sessions de *handling* en les que s'agafava a l'animal per l'esquena i se la tocava durant 10 minuts amb l'objectiu d'acostumar-les a ser manipulades per l'investigador.

3.2. **Ètica i benestar animal**

Tots els procediments van ser duts a terme complint amb la *European Community Council Directive* en l'aproximació de les disposicions administratives dels Estats Membres respecte a la protecció dels animals utilitzats per a finalitats científiques experimentals i altres propòsits científics (86/609/EEC, 24 de novembre de 1986) i amb l'autorització de la Generalitat de Catalunya (DOGC 2450 1997.07.08). Així mateix, l'experiment va ser aprovat per la Comissió d'Ètica en l'Experimentació

Animal i Humana (CEEAH) de la Universitat Autònoma de Barcelona (DARP número de protocol 8694. S'ha procurat reduir al mínim el nombre d'animals utilitzats i el seu patiment.

3.3. Tests conductuals

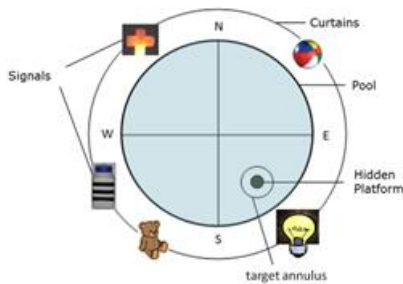
Per poder conèixer l'efecte de la dieta amb RC versus AL en les rates envellides i comparar-ho amb les rates joves es van triar dues proves conductuals que avaluen la capacitat d'aprenentatge i la memòria: el paradigma de la memòria olfactiva (discriminació simple d'olors; DSO) i el paradigma de la memòria espacial (laberint aquàtic de Morris; LAM). Per dur a terme aquestes proves, cadascun dels tres grups inicials es va dividir en dos subgrups en els quals es va contra balancejar la presentació de les proves: en el grup de les rates Old_RC, 10 van fer primer la DSO i una setmana després el LAM (grup DSO-LAM) i 9 rates van fer el contrari (grup LAM-DSO). Del grup de les rates Old_AL 6 rates van fer primer la DSO i una setmana després el LAM i 6 rates van fer el contrari (grup LAM-DSO) i del grup de les rates Young, 8 van fer primer la DSO i una setmana després el LAM (grup DSO-LAM) i 8 rates van fer el contrari (grup LAM-DSO).

3.3.1. Laberint aquàtic de Morris (LAM)

El LAM és un test que va ser desenvolupat per Richard G.M. Morris a l'any 1981. Es tracta d'una prova àmpliament utilitzada ja que permet estudiar l'aprenentatge espacial i la memòria dependent d'HPC i detectar els canvis relacionats amb l'edat (veure la figura 3) (Sharma, Rakoczy & Brown-Borg, 2010; Kennard & Woodruff-Pak, 2011; Lee, Clemenson & Gage, 2012). El laberint consisteix en una gran piscina circular opaca (120-200 cm de diàmetre i 56-75 cm d'altura) dividida en 4 seccions (Nord, Sud, Est i Oest), on la rata nadarà fins a trobar una plataforma (19x22 cm) camuflada sota l'aigua (1 cm) situada en la secció Sud-est en tots els assajos. Al voltant de la piscina s'instal·len estímuls visuals o senyals que permetran a la rata orientar-se per trobar la plataforma (Sharma, Rakoczy & Brown-Borg, 2010; Vicens, Redolat & Carrasco, 2003; Prados & Trolalon, 1998). Cal dur a terme l'experiment sota certes condicions tèrmiques (24°C en la sala i entre 22 i 24°C en l'aigua de la

piscina) i també cal mantenir els instruments nets per evitar que aquestes variables afectin els resultats.

Figura 3: Representació esquemàtica del LAM.

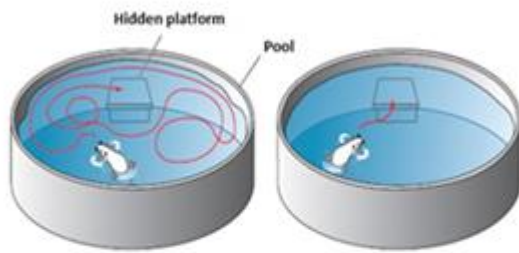


Tal com s'observa en la imatge, el LAM està dividit en 4 quadrants: Nord (N), Sud (S), Est (E) i Oest (W). En el nostre cas, la plataforma es troba en el quadrant SE per a tots els assajos. La piscina està envoltada de diferents estímuls visuals que sempre es localitzen en la mateixa posició i està aïllada a través d'una cortina.

Aquest test consta de 3 fases: adquisició, test i reversal.

La fase d'adquisició consta de 5 sessions d'adquisició (una diària) en les que se suposa que la rata ha d'aprendre a trobar on està la plataforma. Cada rata realitza 4 assajos on cadascun el comença des d'un punt cardinal diferent (Nord, Sud, Est i Oest) i sempre se la col·loca de cara a la paret. Un cop la rata és dins de l'aigua mesurem el temps de latència, és a dir, el temps que triga a localitzar la plataforma. En total se li deixa un temps de 90 segons per trobar la plataforma i es considera que l'ha trobada quan hi roman com a mínim 3 segons. Tot i així, si en aquest temps no ha sigut capaç de localitzar la plataforma, se la deixarà 15 segons sobre d'aquesta abans de treure-la de la piscina perquè es doni un reforçament positiu. En començar la sessió, entre cada assaig i en finalitzar l'últim assaig es fica a la rata en una gàbia totalment tancada durant 2 minuts perquè es pugui consolidar la memòria. El que s'espera és que a mesura que es van fent assajos, cada vegada les rates facin menys temps de latència i la trajectòria cap a la plataforma sigui més directa ja que això voldrà dir que hi ha hagut aprenentatge (veure la figura 4).

Figura 4: Trajectòries de les rates en el LAM abans i després de l'entrenament.



La imatge de l'esquerra mostra la trajectòria que fan les rates quan busquen la plataforma durant el primer assaig, quan encara no hi ha hagut aprenentatge. A mesura que es van realitzant assajos, les rates ja saben on es troba la plataforma i la trajectòria és més directa, tal com es mostra en la imatge de la dreta.

72 hores després de l'adquisició s'inicia la fase del test que consisteix a treure la plataforma i observar durant 60 segons el temps que està dins de la secció on estava abans la plataforma. Per tant, suposem que com més temps passi nadant en la secció on estava la plataforma, més aprenentatge hi haurà.

Finalment, passem a realitzar la tercera fase, la fase del reversal, la qual consisteix a posar la plataforma al quadrant oposat al de l'adquisició (Nord-oest) i veure quant triga a aprendre la nova localització de la plataforma i quant de temps passa en el quadrant on es trobava anteriorment. Per dur a terme aquesta tasca es fan 3 sessions amb un temps límit de 90 segons en els quals, si no troba la plataforma, se la conduirà fins a ella perquè es doni un reforç positiu. Seguidament la introduïm en una gàbia totalment tancada durant 2 minuts. En aquesta part de l'experiment suposem que si hi ha hagut aprenentatge el temps de latència serà inferior.

En totes les fases els assajos s'enregistren a través d'una càmera de vídeo, ja que la piscina està envoltada per cortines perquè no hi hagi variables externes que puguin alterar les referències espacials de les rates. Aquesta càmera es connecta a un ordinador i, a través del programa Smart 2.0, s'enregistra el moviment de les rates dins de la piscina per poder dur a terme un anàlisi posterior de l'aprenentatge espacial, que s'avalua a través dels assajos repetits, i memòria de referència, que es determina per la preferència per al quadrant on era la plataforma quan aquesta està absent (Vicens, Redolat & Carrasco, 2003).

3.3.2 Discriminació simple d'olors (DSO)

La tasca de discriminació simple d'olors permet estudiar la memòria olfactiva i la memòria a curt termini. Aquesta prova consisteix a discriminar entre tres aromes diferents (taronja, anís i vainilla) injectades en tres esponges i en associar una d'aquestes aromes a un reforçador (un cereal d'arròs "chococrispie"). D'aquesta manera, en associar l'aroma amb el reforçador, quan es presenten les tres esponges la rata haurà de mostrar preferència per l'aroma que ha estat reforçada. Durant els 10 dies previs i durant el procés de la DSO, totes les rates han estat sotmeses a reducció d'aliment (6 pellets al dia) per tal d'aconseguir entre un 85 i 87% del seu pes inicial i garantir la motivació per a la ingesta.

La fase d'habitució es va dur a terme en tres dies (3 assaigs per rata) i el seu objectiu és que la rata s'habitui al reforçador, al cereal, ja que és un aliment que no coneixen i podrien presentar neofòbia. Per començar, s'introdueix la rata en una gàbia de plàstic on prèviament s'hi ha col·locat 10 unitats de cereals enters i 2 unitats mòltes, d'aquesta manera el pols de cereal se li enganxa a les mans i en netejar-se el tasten. Es cronometra el temps que triguen a menjar tots els cereals i en finalitzar s'introdueix la rata durant 15 minuts en una caixa de 60 x 60 x 40 cm on a tres de les cantonades hi ha una esponja (8.5 x 6.5 x 5.5 cm, introduïdes en un recipient de vidre) i és on es farà la fase d'adquisició, d'aquesta manera s'acostuma i relaciona també el menjar amb la zona d'adquisició (Portero-Tresserra, Martí-Nicolovius, Guillazo-Blanch, Boadas-Vaello, Vale-Martínez, 2012). En finalitzar el temps es retorna a la rata a la seva gàbia de nidificació i es comptabilitza les miccions i els excrements en la zona d'adquisició perquè la seva presència indica ansietat.

La fase d'adquisició es fa una vegada, l'endemà de l'últim dia d'habitució, i consta de 4 assaigs en els quals a cada rata se li associarà sempre la mateixa aroma. En aquesta fase cada esponja té injectades una de les tres aromes (concentracions: taronja: 0,6ml; vainilla: 0,3ml; anís: 0,2ml), aquestes esponges en el centre tenen un forat on s'introduirà el reforçador (3 cm de diàmetre i 2,5 de profunditat) (Portero-Tresserra, Martí-Nicolovius, Guillazo-Blanch, Boadas-Vaello, Vale-Martínez, 2012).

Es col·loca cada una de les esponges en una cantonada de la caixa i sempre s'introdueix a la rata per la cantonada en la qual no hi ha esponja i de cara a la paret (veure Figura 5) (Portero-Tresserra, Martí-Nicolovius, Guillazo-Blanch, Boadas-Vaello, Vale-Martínez, 2012; Tronel & Sara, 2002; Torras-Garcia, Lelong, Tronel & Sara, 2015).

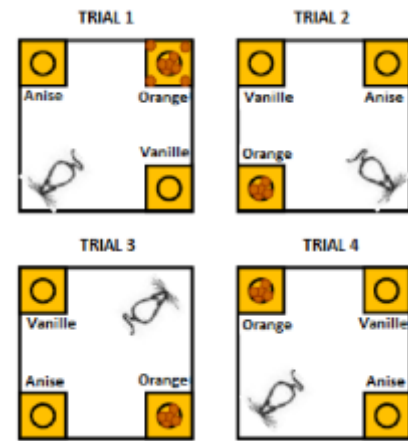


Figura 5. Fase d'adquisició DSO

En aquesta figura es mostra els 4 assaigs que duu a terme una rata en la fase d'adquisició, on a cadascun d'ells el patró va canviant. En aquest cas l'aroma reforçada és la taronja.

En el primer assaig s'omple el forat de l'esponja que es vol associar amb el reforçador i també es posa el reforçador en les quatre cantonades superiors de l'esponja per a què la rata els vegi (Tronel & Sara, 2002). Es cronometra fins que menja del forat amb un temps màxim per fer-ho de 3 minuts. En finalitzar aquest assaig hi ha un minut de latència entre assaigs on la rata està en una gàbia de plàstic. En els següents tres assaigs es continua reforçant la mateixa aroma introduint els cereals només en el forat, i entre assaig i assaig es va canviant el patró, en cada assaig les esponges estaran en una cantonada diferent. També es cronometra fins que menja o fins a 3 minuts si no ha menjat i entre cada assaig també hi ha una latència d'un minut (Portero-Tresserra, Martí-Nicolovius, Guillazo-Blanch, Boadas-Vaello, Vale-Martínez, 2012). Aquesta fase es duu a terme per tal de consolidar la memòria i que associï una de les tres aromes al reforçador.

La fase del Test es du a terme 72 hores després de la fase d'adquisició, per tal d'observar si hi ha memòria olfactiva i memòria a curt termini. Aquesta fase també compta amb 4 assaigs de 3 minuts i 1 minut de latència entre ells. En el primer assaig s'introdueix a la rata en la caixa amb les 3 esponges, igual que en la fase d'adquisició, però a l'esponja amb l'aroma que havia estat reforçada aquest cop no s'hi ha introduït els cereals. Es comptabilitza el temps que triga a ficar el cap en el forat de l'esponja amb l'aroma reforçada i quan ho fa s'extreu a la rata ràpidament de la caixa perquè no hi hagi extinció de l'aprenentatge (Portero-Tresserra, Martí-Nicolovius, Guillazo-Blanch, Boadas-Vaello, Vale-Martínez, 2012). Durant els següents tres assaigs es va canviant el patró espacial i sí que hi ha cereals en

l'esponja amb l'aroma reforçada. En aquests assaigs posteriors al primer, el fenomen de resistència a l'extinció es consideraria una mesura de retenció (Torras-Garcia, Lelong, Tronel & Sara, 2015). L'aprenentatge es mesura per dos paràmetres: les vegades que la rata introdueix el cap en el forat i menja i els errors (errors d'omissió quan olora l'esponja on l'aroma està reforçada i no menja i errors de comissió quan va a altres esponges on l'aroma no està reforçada i fica el cap en el forat) (Portero-Tresserra, Martí-Nicolovius, Guillazo-Blanch, Boadas-Vaello, Vale-Martínez, 2012; Tronel & Sara, 2002; Torras-Garcia, Lelong, Tronel & Sara, 2015). Totes les sessions són gravades amb una càmera connectada a un monitor per tal de fer un seguiment del procediment sense interferir en la conducta de la rata.

3.3.3. Test de la galeta

Aquesta prova es fa per comprovar que no tenen l'olfacte alterat i com a complement de la DSO. Les rates continuen estant sota restricció d'aliment. En un primer moment es col·loca a la gàbia de la rata mitja galeta de mantega durant tota una nit per tal que s'habitui a aquest tipus d'aliment. L'endemà es duu a terme el test, consisteix a amagar una galeta sota una capa de serradures en una gàbia de parets opaques (de dimensions 50 x 22 x 24 cm). Es pesa, s'introdueix la rata en el cantó contrari d'on està la galeta i de cara a la paret i es cronometra quant temps triga a trobar-la i en ficar-se-la a la boca (Portero-Tresserra, Martí-Nicolovius, Guillazo-Blanch, Boadas-Vaello, Vale-Martínez, 2012).

3.3.4. Anàlisi de Dades

Per a l'anàlisi estadística dels resultats es va utilitzar el software SPSS v23 que es troba disponible en les aules d'informàtica de la Universitat Autònoma de Barcelona. Els resultats estan expressats com a mitjana \pm desviació estàndard (DS) i error estàndard (EE) i es va fixar el nivell de significació del 5% ($p < 0,05$). Per comparar l'execució dels subjectes en les diverses sessions es va utilitzar l'anàlisi de la variància (ANOVA) de mesures repetides amb el factor grup com a variable independent i com a variable dependent, els pesos de les rates al llarg de tota la investigació per tal de veure la seva evolució, la latència en trobar el "chococrispie" i

els errors duts a terme en 3 moments diferents de la prova de la DSO (mitjana de les 4 sessions d'adquisició, la primera sessió del test i la mitjana de les 3 últimes sessions del test) i la latència en trobar la plataforma submergida, el temps que passen en el quadrant on hi ha la plataforma, el temps que passen en la paret de la piscina circular (tigmotaxis), la velocitat de natació (swim speed), la longitud recorreguda i la distància a la plataforma en les diferents sessions d'adquisició per la prova de LAM. Amb aquest ANOVA es comprova si hi ha diferències significatives entre grups, entre les diferents sessions i en la interacció grup per sessió. En el cas que l'esfericitat no fos assumida, s'utilitzaria la correcció de Greenhouse-Geisser amb dos decimals. Així mateix, es va realitzar un ANOVA one-way per estudiar el test de la galeta en la DSO i les variables ja descrites del LAM però per la sessió del test i per la mitjana de les sessions del reversal. Quan es van detectar diferències en l'ANOVA, es va utilitzar la prova de comparacions múltiples o anàlisi posthoc de Bonferroni per tal de comprovar entre quins grups hi havia diferències significatives. A part d'aquestes proves, s'ha dut a terme un t-test del 25% per estudiar el temps que passaven les rates en el quadrat objectiu en la fase del test del LAM. Finalment, per cadascuna d'aquestes anàlisis, s'obté els estadístics descriptius i una gràfica que representa el comportament de les rates per les diferents mesures.

4. RESULTATS

4.1. Estat dels subjectes

Primer de tot es va estudiar si hi havia cap diferència en el pes segons l'ordre en què es van realitzar les diferents proves. Es va observar que per cada grup de rates, Old_AL ($F_{[1,9]}=0.149$; $p=0.709$), Old_RC ($F_{[1,17]}=4.029$; $p=0.061$) i Young ($F_{[1,14]}=1.670$; $p=0.217$), no hi havia diferències significatives intragrup, per tant l'ordre de les proves no va influir en l'evolució del pes. La Taula 1 mostra les mitjanes del pes, la DS i EE, pels diferents grups en les diferents proves. Com es pot observar, les rates amb major pes són les Old_AL, seguides del grup Old_RC i les Young.

Taula 1. Descriptius estadístics de la variable Pes pels diferents grups i sessions experimentals.

Estadístics descriptius

Sessió	Grup	N	Mitjana	Desviació estàndard	Error estàndard	Interval de confiança al 95%	
						Límit inferior	Límit superior
Pes 100%	Old_RC	19	505.058	24.2713	13.079	478.681	531.435
	Old_AL	11	709.518	104.3720	17.189	674.852	744.184
	Young	16	472.725	36.7163	14.253	443.982	501.468
1º dia handling	Old_RC	19	497.879	24.0086	13.329	470.998	524.760
	Old_AL	11	716.345	107.1552	17.518	681.017	751.674
	Young	16	462.888	36.4774	14.525	433.594	492.181
Habitució cereal DSO	Old_RC	19	469.389	29.8661	12.728	443.721	495.058
	Old_AL	11	641.464	98.5769	16.728	607.729	675.198
	Young	16	433.838	35.7041	13.870	405.866	461.809
1º dia adquisició DSO	Old_RC	19	464.621	32.0046	12.483	439.447	489.795
	Old_AL	11	620.964	96.6659	16.406	587.879	654.049
	Young	16	417.738	32.0662	13.603	390.305	445.170
Test DSO	Old_RC	19	457.195	29.3974	11.872	433.252	481.138
	Old_AL	11	606.909	92.5711	15.603	575.442	638.376
	Young	16	410.856	30.4497	12.938	384.765	436.947
Test Galeta	Old_RC	19	461.311	30.8074	11.920	437.272	485.349
	Old_AL	11	598.964	92.2003	15.666	567.370	630.557
	Young	16	406.456	30.5397	12.989	380.261	432.652
1º dia adquisició LAM	Old_RC	19	488.379	36.6114	12.182	463.812	512.946
	Old_AL	11	641.709	90.1727	16.010	609.422	673.996
	Young	16	462.675	32.4556	13.275	435.904	489.446
Test LAM	Old_RC	19	468.189	44.0993	13.147	441.675	494.704
	Old_AL	11	662.618	91.4222	17.279	627.772	697.465
	Young	16	480.006	38.8476	14.327	451.113	508.900
Previ sacrifici	Old_RC	19	469.679	37.2038	12.072	445.334	494.024
	Old_AL	11	631.055	83.7819	15.865	599.059	663.050
	Young	16	484.306	39.9585	13.155	457.777	510.836

L'ANOVA va demostrar diferències estadísticament significatives en el pes de les rates entre sessions ($F_{[2.99,128.48]} = 159.502$; $p < 0.001$), entre grups ($F_{[2,43]} = 51.933$; $p < 0.001$) i en la interacció grup per sessió ($F_{[5.98,128.48]} = 28.448$; $p < 0.001$). L'anàlisi posthoc va confirmar diferències significatives entre els grups Old_AL i Old_RC

($p<0.001$) i entre Old_AL i Young ($p<0.001$) en el conjunt de les proves, en canvi no hi va haver diferències entre el grup Old_RC i Young ($p=0.389$).

Finalment, a la Figura 6 es representa l'evolució del pes pels diferents grups al llarg de les diferents sessions i observem que els grups Old_RC i Young mantenen un pes molt similar a diferència de les Old_AL, que es troben molt per sobre. El pes va disminuir de manera similar en els tres grups durant la fase de l'aprenentatge de la DSO i va augmentar durant la fase del test del LAM.

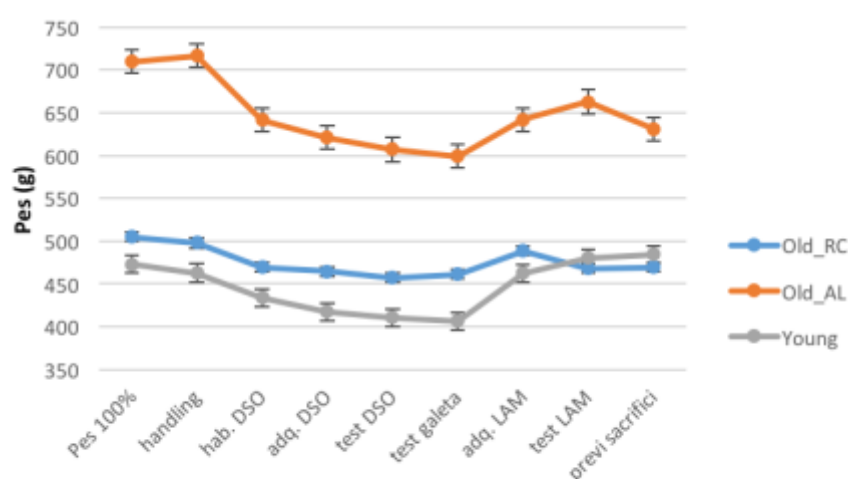


Figura 6. Evolució de la mitjana (\pm EE) dels pesos dels tres grups experimentals en les diferents proves.

4.2. Resultats Conductuals

4.2.1. Laberint Aquàtic de Morris

4.2.1.1. Fase d'adquisició

Pel que fa a la latència, és a dir, el temps que trigen les rates a arribar a la plataforma, s'observa en la Taula 2 la mitjana, la DS i el EE de cada grup per cada sessió. L'ANOVA va indicar diferències estadísticament significatives entre sessions ($F_{[4,172]}=19.137$, $p<0.001$), entre grups ($F_{[2,43]}=14.512$, $p<0.001$) i a la interacció grup per sessió ($F_{[8,172]}=2.428$, $p=0.016$). L'anàlisi posthoc va confirmar diferències significatives entre les rates del grup Young i les Old_AL ($p<0.001$) en la sessió 1 ($p=0.016$), 3 ($p<0.001$), 4 ($p=0.002$) i 5 ($p<0.001$) i entre les rates del grup Young i les Old_RC ($p<0.001$) en la sessió 2 ($p=0.016$), 3 ($p=0.001$), 4 ($p=0.006$) i 5 ($p<0.001$). A la Figura 7, s'observa com va disminuint la latència entre sessions per

tots els grups, el que demostra que hi ha hagut aprenentatge entre sessions en tots els grups experimentals, si bé les rates joves van mostrar un aprenentatge més ràpid que les velles.

Taula 2. Descriptius estadístics de la variable Latència per cada grup experimental en cada sessió d'adquisició del LAM.

Estadístics descriptius

Sessió	Grup	N	Mitjana	Desviació estàndard	Error estàndard	Interval de confiança al 95%	
						Límit inferior	Límit superior
Sessió1	Old_RC	19	82.5921	12.1643	2.738	77.070	88.115
	Old_AL	11	87.6714	4.83661	3.599	80.413	94.929
	Young	16	75.8886	14.67233	2.984	69.871	81.907
Sessió2	Old_RC	19	78.8282	13.54204	3.351	72.071	85.586
	Old_AL	11	76.9700	13.76894	4.404	68.089	85.851
	Young	16	66.3792	16.28147	3.651	59.015	73.743
Sessió3	Old_RC	19	70.5129	15.36948	4.354	61.732	79.293
	Old_AL	11	75.5445	19.26414	5.722	64.005	87.084
	Young	16	47.1038	22.39702	4.745	37.535	56.672
Sessió4	Old_RC	19	63.4722	19.90926	4.585	54.226	72.718
	Old_AL	11	70.2823	12.57261	6.026	58.130	82.434
	Young	16	44.0505	23.74634	4.996	33.975	54.126
Sessió5	Old_RC	19	67.2101	24.15232	4.781	57.569	76.851
	Old_AL	11	77.1441	11.91282	6.283	64.473	89.815
	Young	16	40.4713	21.21875	5.210	29.965	50.978

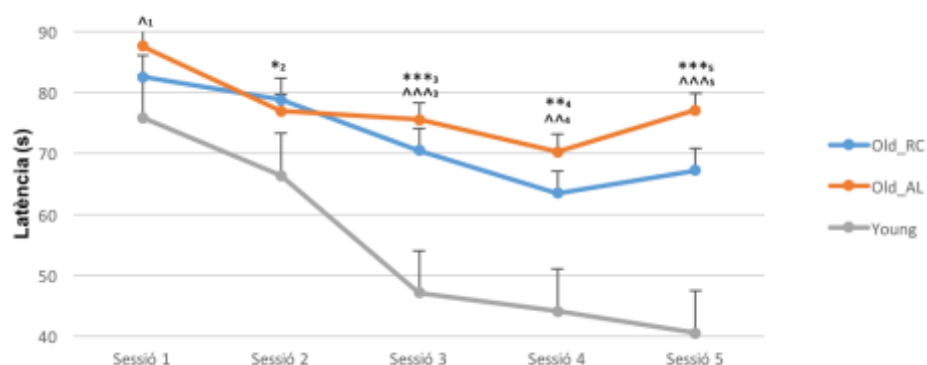


Figura 7. Evolució de la mitjana (+EE) de latència dels tres grups experimentals en cada sessió d'adquisició del LAM. Sessió 1: ^{^1}p<0,05 entre Young i Old_AL. Sessió 2: ^{^2}p<0,05 entre Young i Old_RC. Sessió 3: ^{*3}p<0,001 entre Young i Old_RC i ^{^^^3}p<0,001 entre Young i Old_AL. Sessió 4: ^{***4}p<0,01 entre Young i Old_RC i ^{^^4}p<0,01 entre Young i Old_AL. Sessió 5: ^{***5}p<0,001 entre Young i Old_RC i ^{^^^5}p<0,001 entre Young i Old_AL.**

En quant al temps que passen les rates en el quadrant on es troba la plataforma, s'observa en la Taula 3 la mitjana, la DS i el EE per cada grup en cada sessió. L'ANOVA va mostrar diferències significatives entre sessions ($F_{[4,172]}=14.58$, $p<0.001$) i entre grups ($F_{[2,43]}=23.913$, $p<0.001$) però no en la interacció grup per sessió ($F_{[8,172]}=1.587$, $p=0.132$). L'anàlisi posthoc va confirmar diferències entre el grup Young i els grups Old_AL i Old_RC (ambdues $p<0,001$) en totes les sessions. Per tant, les Young passen més temps en el quadrant on es troba la plataforma que les Old_AL i les Old_RC, el que demostra que tenen un millor aprenentatge de la ubicació de la plataforma.

Taula 3. Descriptius estadístics de la variable Temps en el quadrant per cada grup experimental en cada sessió d'adquisició del LAM.

Estadístics descriptius

Sessió	Grup	N	Mitjana	Desviació estàndard	Error estàndard	Interval de confiança al 95%	
						Límit inferior	Límit superior
Sessió 1	Old_RC	19	26.4996	6.46930	1.634	23.203	29.796
	Old_AL	11	28.6252	4.86512	2.148	24.293	32.957
	Young	16	35.8661	8.91681	1.781	32.274	39.458
Sessió2	Old_RC	19	31.2033	6.36964	1.647	27.881	34.525
	Old_AL	11	32.0105	8.36845	2.165	27.645	36.376
	Young	16	40.7038	7.23960	1.795	37.084	44.324
Sessió3	Old_RC	19	33.5346	7.29361	2.318	28.860	38.209
	Old_AL	11	36.0582	10.72487	3.047	29.914	42.202
	Young	16	49.5039	12.33540	2.526	44.410	54.598
Sessió4	Old_RC	19	38.2229	10.63540	2.288	33.609	42.837
	Old_AL	11	36.8852	8.22723	3.007	30.821	42.949
	Young	16	49.2969	10.20988	2.493	44.269	54.325
Sessió5	Old_RC	19	34.4129	12.77690	2.566	29.238	39.588
	Old_AL	11	33.0050	6.93616	3.373	26.203	39.807
	Young	16	52.3377	11.43369	2.797	46.698	57.977

Tal com mostra la Figura 8, els 3 grups, a mesura que avancen les sessions, van augmentant el temps que passen dins del quadrant on es troba la plataforma. Les rates dels grups Old_AL i Old_RC tenen un comportament similar i passen pràcticament el mateix temps en el quadrant on es troba la plataforma, mentre que les Young hi passen més temps i l'augment entre sessions és major.

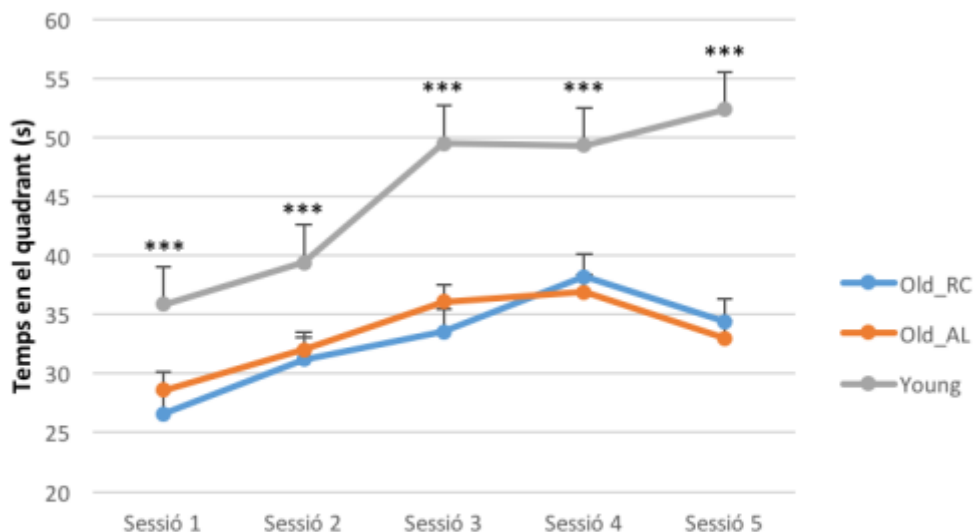


Figura 8. Evolució de la mitjana (+EE) de temps en el quadrant dels tres grups experimentals en cada sessió d'adquisició del LAM. Sessions 1 - 5: *** $p < 0,001$ entre Young i els grups Old_AL i Old_RC.

Una altra mesura que es va estudiar va ser la velocitat de natació de les rates, la qual permet veure si hi ha diferències d'activitat motora entre els diferents grups i sessions (veure Taula 4). L'ANOVA va demostrar diferències significatives entre sessions ($F_{[2,62,112,67]}=8.041$, $p < 0.001$) i en la interacció grup per sessió ($F_{[5,24,112,67]}=4.808$, $p < 0.001$) però no entre grups ($F_{[2,43]}=1.276$, $p=0.290$). Per tant, l'activitat motora dels diferents grups va ser similar. No obstant això, tal com s'observa en la Figura 9, les rates del grup Old_RC i les Old_AL tendrien a un comportament semblant on la velocitat incrementa fins a la sessió 3 i després disminueix fins a la 5, a diferència de les Young que incrementen la velocitat en la sessió 2 i disminueixen la velocitat ràpidament al llarg de les següents sessions.

Taula 4. Descriptius estadístics de la variable Velocitat de natació per cada grup experimental en cada sessió d'adquisició del LAM.

Estadístics descriptius

Sessió	Grup	N	Mitjana	Desviació estàndard	Error estàndard	Interval de confiança al 95%	
						Límit inferior	Límit superior
Sessió1	Old_RC	19	58.6621	7.86326	1.823	54.986	62.338
	Old_AL	11	58.4625	7.05609	2.395	53.632	63.293
	Young	16	67.0617	8.57649	1.986	63.056	71.067
Sessió2	Old_RC	19	64.8680	7.82831	1.868	61.102	68.634
	Old_AL	11	60.3764	7.54098	2.454	55.426	65.326
	Young	16	70.2544	8.86119	2.035	66.150	74.359
Sessió3	Old_RC	19	65.0755	6.24466	2.005	61.031	69.120
	Old_AL	11	60.7	7.87476	2.636	55.385	66.015
	Young	16	61.7484	11.44093	2.185	57.341	66.155
Sessió4	Old_RC	19	62.6829	7.18217	2.070	58.507	66.858
	Old_AL	11	57.9386	7.41241	2.721	52.451	63.426
	Young	16	57.2967	11.61697	2.256	52.747	61.847
Sessió5	Old_RC	19	61.1599	7.32075	2.113	56.899	65.420
	Old_AL	11	57.2218	9.33323	2.776	51.623	62.821
	Young	16	55.5145	10.98609	2.302	50.872	60.157

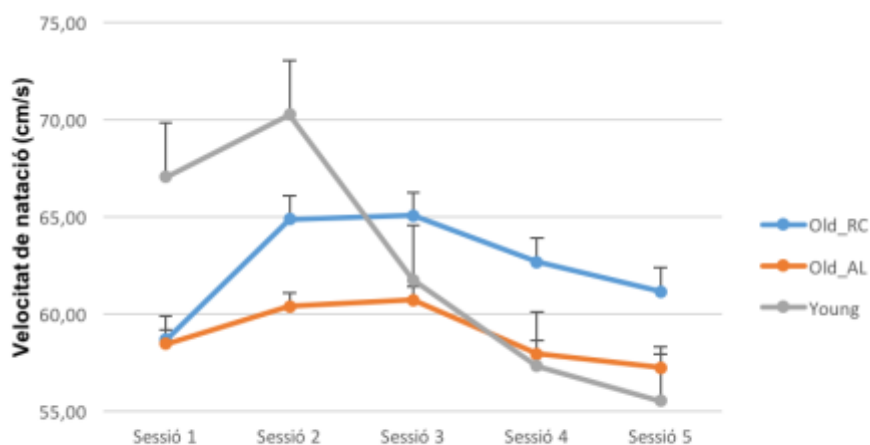


Figura9. Evolució de la mitjana (+EE) de la velocitat de natació dels tres grups experimentals en cada sessió d'adquisició del LAM.

També, es va analitzar la tigmotaxis, una mesura d'activitat motora i d'ansietat. Per determinar aquesta variable, es va comptabilitzar el temps que destinen les rates a nedar per la vora de la paret durant les sessions. La Taula 5 mostra les mitjanes, DS

i EE de cada grup per cada sessió. L'ANOVA va indicar les diferències significatives entre sessions ($F_{[3.24,139.35]}=51.559$, $p<0.001$) però no entre grups ($F_{[2,43]}=2.663$, $p=0.081$) ni la interacció grup per sessió ($F_{[6.48,139.35]}=0.621$, $p=0.725$). Per tant el nivell d'ansietat és similar en els diferents grups de rates. A la Figura 10 s'observa com el temps que les rates neden vora la paret va disminuint a mesura que es realitzen les sessions, el que demostra que l'ansietat es redueix en anar adquirint l'aprenentatge.

Taula 5. Descriptius estadístics de la variable Tigmotaxis per cada grup experimental en cada sessió d'adquisició del LAM.

Estadístics descriptius

Sessió	Grup	N	Mitjana	Desviació estàndard	Error estàndard	Interval de confiança al 95%	
						Límit inferior	Límit superior
Sessió1	Old_RC	19	58.8071	10.58004	2.211	54.349	63.265
	Old_AL	11	53.1625	6.44553	2.905	47.303	59.022
	Young	16	50.3084	10.20590	2.409	45.450	55.167
Sessió2	Old_RC	19	50.8083	13.14937	3.134	44.489	57.128
	Old_AL	11	44.4602	12.41627	4.119	36.154	52.766
	Young	16	39.8097	14.98700	3.415	32.923	46.696
Sessió3	Old_RC	19	38.6951	16.06578	3.852	30.928	46.462
	Old_AL	11	39.6766	15.66734	5.062	29.468	49.885
	Young	16	29.9755	18.29195	4.197	21.511	38.440
Sessió4	Old_RC	19	31.9397	14.11758	3.228	25.430	38.450
	Old_AL	11	32.6852	14.02231	4.243	24.129	41.241
	Young	16	23.6575	14.04772	3.518	16.563	30.752
Sessió5	Old_RC	19	30.7887	16.13633	3.508	23.713	37.864
	Old_AL	11	31.4898	15.16114	4.611	22.191	40.789
	Young	16	25.3216	14.30763	3.823	17.611	33.032

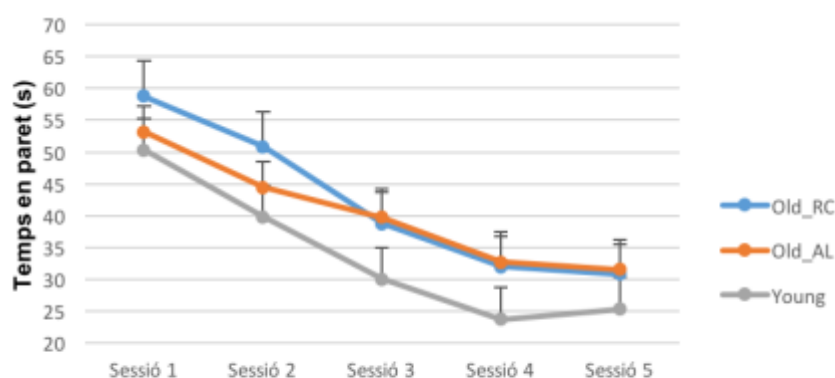


Figura 10. Evolució de la mitjana (+EE) de temps a la paret dels tres grups experimentals en cada sessió d'adquisició del LAM.

També es va mesurar la longitud, és a dir, la distància que les rates van recórrer fins a arribar a la plataforma. En la Taula 6 es mostren les mitjanes, SD i EE de cada grup en cada sessió. L'ANOVA va mostrar que hi havia diferències significatives entre grups ($F_{[2,43]}=6.023$, $p=0.005$), sessions ($F_{[4,172]}=15.218$, $p<0.001$) i en la interacció grup per sessió ($F_{[8,172]}=3.616$, $p=0.001$). L'anàlisi posthoc va confirmar que les diferències significatives eren entre les rates del grup Young i les Old_AL ($p=0.012$) en la sessió 3 ($p=0.010$), 4 ($p=0.019$) i 5 ($p<0.001$) i les rates del grup Young i les Old_RC ($p=0.017$) en la sessió 3 ($p=0.004$), 4 ($p=0.017$) i 5 ($p=0.001$).

Taula 6. Descriptius estadístics de la variable Longitud recorreguda per trobar la plataforma dels tres grups experimentals per a les diferents sessions d'adquisició del LAM.

Estadístics descriptius

Sessió	Grup	N	Mitjana	Desviació estàndard	Error estàndard	Interval de confiança al 95%	
						Límit inferior	Límit superior
Sessió1	Old_RC	19	4789.6014	781.14965	224.191	4337.477	5241.726
	Old_AL	11	4972.0186	769.03335	294.645	4377.811	5566.226
	Young	16	4954.0687	1269.28064	244.306	4461.378	5446.760
Sessió2	Old_RC	19	4790.2849	1341.53883	288.125	4209.225	5371.345
	Old_AL	11	4721.6730	862.66167	378.671	3958.011	5485.335
	Young	16	4748.7362	1365.94924	313.977	4115.541	5381.932
Sessió3	Old_RC	19	4434.1996	1084.99635	320.935	3786.973	5081.427
	Old_AL	11	4456.3566	1184.56932	421.791	3605.734	5306.980
	Young	16	2984.2509	1806.07184	349.731	2278.952	3689.550
Sessió4	Old_RC	19	3891.9078	1524.85998	351.951	3182.130	4601.685
	Old_AL	11	4062.2464	988.47095	462.555	3129.416	4995.077
	Young	16	2593.5877	1818.00717	383.530	1820.126	3367.050
Sessió5	Old_RC	19	3934.3353	1462.79023	319.607	3289.786	4578.885
	Old_AL	11	4482.6552	1138.86913	420.046	3635.551	5329.759
	Young	16	2234.5053	1459.90412	348.284	1532.124	2936.887

Tal i com mostra la Figura 11, les rates dels grups Old_AL i Old_RC mostraven un comportament similar i en les diferents sessions van recórrer distàncies semblants fins arribar a la plataforma, a diferència de les Young que en recorren menys. A més, mostra com en els 3 grups, al llarg de les sessions, la distància recorreguda va disminuint.

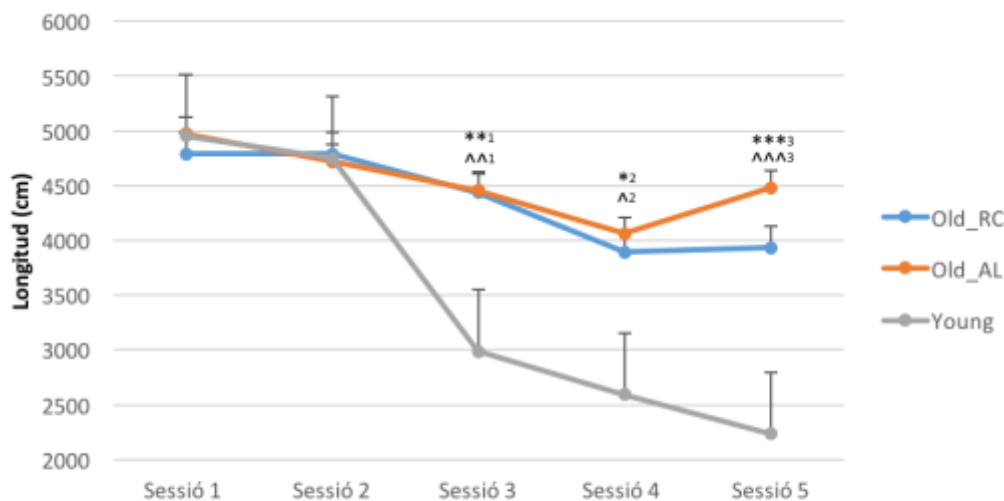


Figura 11. Evolució de la mitjana (+EE) de longitud recorreguda per trobar la plataforma dels tres grups experimentals en cada sessió d'adquisició del LAM. Sessió 3: $^{**1}p<0,01$ entre Young i Old_RC i $^{^^1}p<0,01$ entre Young i Old_AL. Sessió 4: $^{*2}p<0,05$ entre Young i Old_RC i $^{^2}p<0,05$ entre Young i Old_AL. Sessió 5: $^{***3}p<0,001$ entre Young i Old_RC i $^{^^^3}p<0,001$ entre Young i Old_AL.

Per últim es va mesurar la distància a la qual les rates nadaven de la plataforma. La Taula 7 mostra la mitjana, SD i EE per cada grup experimental en cada sessió. L'ANOVA va confirmar que les diferències entre grups ($F_{[2,43]}=22.844$, $p<0.001$), sessions ($F_{[4,172]}=21.978$, $p<0.001$) i en la interacció grup per sessió ($F_{[8,172]}=2.084$, $p=0.04$) eren significatives. L'anàlisi posthoc, va confirmar diferències entre les rates del grup Young i les Old_RC ($p<0.001$) en la sessió 1 ($p=0.001$), 2 ($p<0.001$), 3 ($p<0.001$), 4 ($p=0.002$) i 5 ($p<0.001$) i entre les rates del grup Young i les Old_AL ($p<0.001$) en la sessió 2 ($p=0.005$), 3 ($p=0.004$), 4 ($p=0.001$) i 5 ($p<0.001$).

Tal com mostra la Figura 12, les rates envellides adopten un comportament semblant en les diferents sessions i en general s'observa una disminució de la distància a la plataforma. En canvi, les Young estan sempre a menys distància de la plataforma que els altres dos grups i aquesta va disminuir al llarg de les sessions.

Taula 7. Descriptius estadístics de la variable Distància recorreguda cap a la plataforma dels tres grups experimentals per les diferents sessions d'adquisició del LAM.

Estadístics descriptius

Sessió	Grup	N	Mitjana	Desviació estàndard	Error estàndard	Interval de confiança al 95%	
						Límit inferior	Límit superior
Sessió 1	Old_RC	19	253.3350	20.30122	4.522	244.216	262.454
	Old_AL	11	241.9048	17.76805	5.943	229.920	253.890
	Young	16	230.3847	20.21609	4.928	220.447	240.322
Sessió 2	Old_RC	19	245.4400	17.08266	4.872	235.615	255.265
	Old_AL	11	237.9180	21.42332	6.403	225.005	250.831
	Young	16	213.1558	25.23237	5.309	202.449	223.863
Sessió 3	Old_RC	19	234.3625	19.66572	6.321	221.615	247.110
	Old_AL	11	223.3148	29.25024	8.308	206.561	240.069
	Young	16	189.9947	33.79198	6.888	176.103	203.886
Sessió 4	Old_RC	19	215.2412	27.74516	6.217	202.703	227.779
	Old_AL	11	223.1389	22.63556	8.171	206.660	239.617
	Young	16	184.8292	28.98322	6.775	171.166	198.492
Sessió 5	Old_RC	19	225.7591	31.99324	6.208	213.239	238.279
	Old_AL	11	227.5836	19.05430	8.159	211.129	244.039
	Young	16	178.1823	25.08010	6.765	164.539	191.826

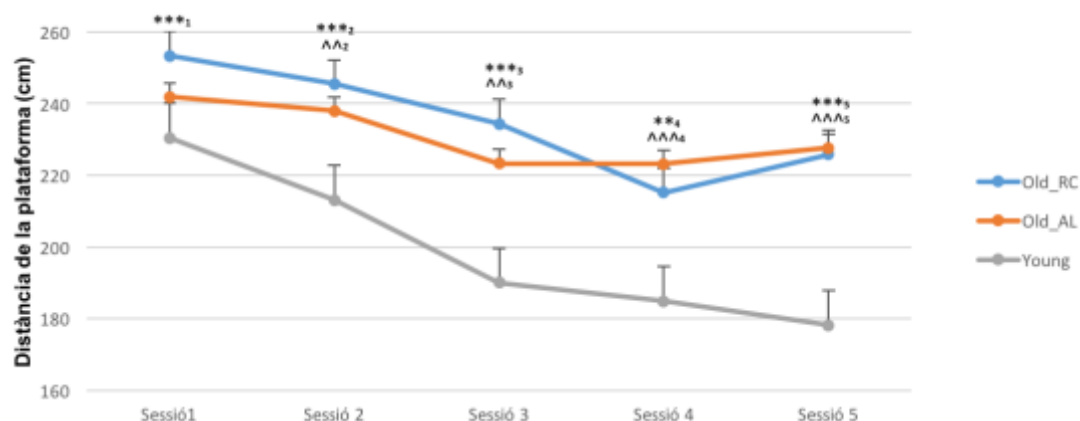


Figura 12. Evolució de la mitjana (+EE) de distància recorreguda cap a la plataforma dels tres grups experimentals en cada sessió d'adquisició del LAM. Sessió 1: ***¹ $p < 0,001$ entre Young i Old_RC. Sessió 2: ****² $p < 0,001$ entre Young i Old_RC i ^^² $p < 0,01$ entre Young i Old_AL. Sessió 3: ****³ $p < 0,001$ entre Young i Old_RC i ^^³ $p < 0,01$ entre Young i Old_AL. Sessió 4: ****⁴ $p < 0,01$ entre Young i Old_RC i ^^⁴ $p < 0,001$ entre Young i Old_AL. Sessió 5: ****⁵ $p < 0,001$ entre Young i Old_RC i ^^⁵ $p < 0,001$ entre Young i Old_AL.

4.2.1.2. Fase del test

La Taula 8 mostra les mitjanes, DS i EE del temps que les rates passaven en el quadrant on hi havia la plataforma. L'ANOVA va mostrar que hi havia diferències significatives entre els grups ($F_{[2,43]}=4,985$, $p=0,011$) i l'anàlisi posthoc va indicar que les diferències eren entre les rates dels grups Old_AL i Young ($p=0,009$). Aquests resultats els observem en la Figura 13. En canvi, les rates del grup Old_RC no es van diferenciar ni de les Old_AL ni de les Young.

Taula 8. Descriptius estadístics de la variable Temps en el quadrant per cada grup experimental en la fase test del LAM.

Estadístics descriptius

Grup	N	Mitjana	Desviació estàndard	Error estàndard	Interval de confiança al 95%	
					Límit inferior	Límit superior
Old_RC	19	36,7542	10,62004	2,43640	31,6355	41,8729
Old_AL	11	26,1373	10,73329	3,23621	18,9266	33,3480
Young	16	46,0725	23,18033	5,79508	33,7206	58,4244

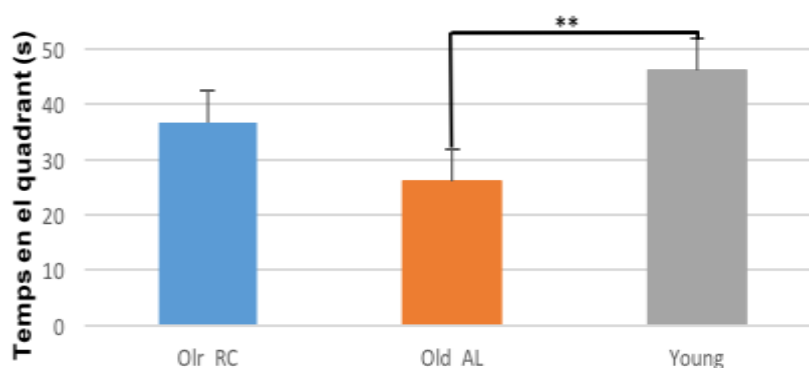


Figura 13. Mitjana (+EE) de temps en el quadrant pels tres grups experimentals en la fase test del LAM. ** $p<0,01$.

No obstant això, per considerar que hi ha hagut memòria del LAM es va establir com a criteri que durant la prova de test les rates passessin més del 25% del temps total en el quadrant on abans estava la plataforma. La taula 9 mostra les mitjanes, DS i EE de cada grup en els primers 30 segons de la fase del test (Temps 1) i en el total de la fase (Temps total). En la Taula 10 s'observa que les rates del grup Young i de

les Old_RC sí que passaven més del 25% del temps en el quadrant on hi havia la plataforma i, per tant, aquests grups es pot considerar que havien après i recordaven la ubicació de la plataforma.

Taula 9. Descriptius de la variable Temps en el Quadrant en els primers 30 segons i en el total de la sessió per cada grup experimental.

Prova de mostra única

Temps en el quadrant	Grup	Valor de prova = 25						
		N	t	gl	Sig. (bilateral)	Diferència de mitjanes	Interval de confiança al 95%	
							Límit inferior	Límit superior
Temps 1	Old_RC	19	4.404	18	0.000	11.19316	5.8537	16.5326
	Old_AL	11	0.775	10	0.456	4.42364	-8.2976	17.1448
	Young	16	4.265	15	0.001	30.43688	15.2268	45.6470
Temps total	Old_RC	19	4.824	18	0.000	11.75421	6.6355	16.8729
	Old_AL	11	0.351	10	0.733	1.13727	-6.0734	8.3480
	Young	16	3.636	15	0.002	21.07250	8.7206	33.4244

Taula 10. Prova de mostra única amb criteri del 25% del temps en el quadrant en els primers 30 segons i en el total de la sessió per cada grup experimental.

Estadístiques de mostra única

Temps en el quadrant	Grup	N	Mitjana	Desviació estàndard	Mitjana error estàndard
Temps 1	Old_RC	19	36.1932	11.07797	2.54146
	Old_AL	11	29.4236	18.93573	5.70934
	Young	16	55.4369	28.54415	7.13604
Temps total	Old_RC	19	36.7542	10.62004	2.43640
	Old_AL	11	26.1373	10.73329	3.23621
	Young	16	46.0725	23.18033	5.79508

Pel que fa a la velocitat de natació en aquesta fase, en la Taula 11 s'observen les mitjanes, DS i EE de la velocitat dels tres grups experimentals. L'ANOVA va mostrar que les diferències entre grups no eren significatives ($F_{[2,43]}=1,416$, $p=2,54$) i, tal i com es mostra en la Figura 14, els tres grups tenien la mateixa activitat motora també en aquesta fase.

Taula 11. Descriptius estadístics de la variable Velocitat de natació per cada grup experimental en la fase test del LAM.

Estadístics descriptius

Grup	N	Mitjana	Desviació estàndard	Error estàndard	Interval de confiança al 95%	
					Límit inferior	Límit superior
Old_RC	19	65,6342	12,31324	2,82485	59,6994	71,5690
Old_AL	11	64,9036	10,88763	3,28274	57,5892	72,2180
Young	16	59,4575	10,56799	2,64200	53,8262	65,0888

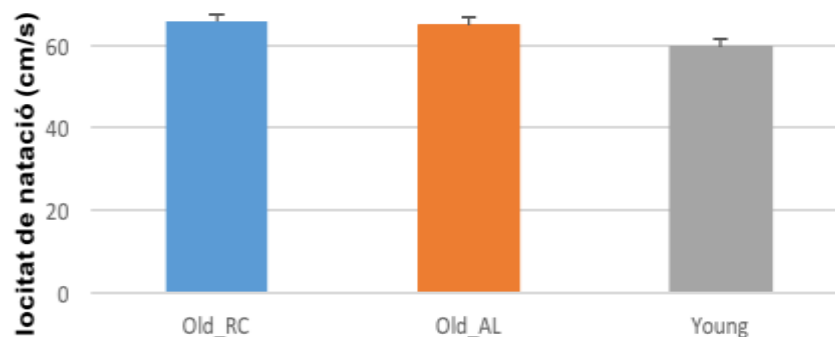


Figura 14. Mitjana (+EE) de velocitat de natació dels tres grups experimentals en la fase test del LAM.

A la Taula 12, observem la mitjana, DS i EE de la variable tigmotaxis, és a dir, del temps que les rates passaven nedant al voltant de la paret de la piscina del LAM. L'ANOVA va demostrar que no hi havia diferències significatives entre grups ($F_{[2,43]}=0.548$, $p=0.582$) i, per tant, el nivell d'ansietat va ser el mateix per un grup que per un altre, tal i com mostra la Figura 15.

Taula 12. Descriptius estadístics de la variable Tigmotaxis per cada grup experimental en la fase test del LAM.

Estadístics descriptius

Grup	N	Mitjana	Desviació estàndard	Error estàndard	Interval de confiança al 95%	
					Límit inferior	Límit superior
Old_RC	19	24,6668	15,03815	3,44999	17,4187	31,9150
Old_AL	11	31,3182	20,93031	6,31073	17,2570	45,3794
Young	16	27,9581	16,21357	4,05339	19,3185	36,5977

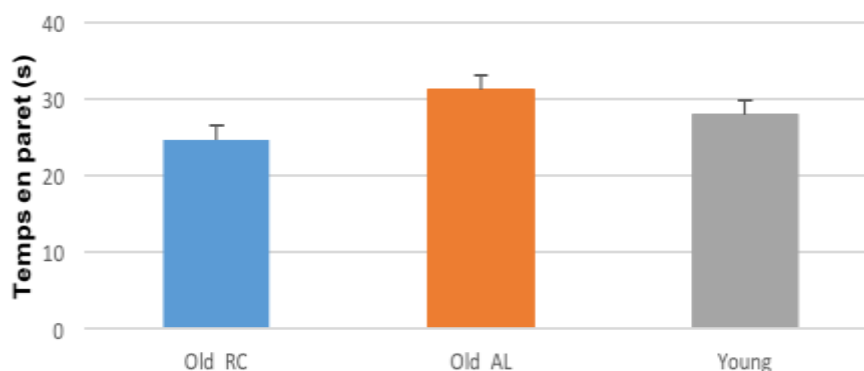


Figura 15. Mitjana (+EE) de temps a la paret dels tres grups experimentals en la fase test del LAM.

Pel que fa a la longitud recorreguda, la Taula 13 i la Figura 16 es mostren la mitjana, DS i EE per cada grup en la sessió de test. L'ANOVA va mostrar que no hi havia diferències significatives entre grups ($F_{[2,43]}=1.273$, $p=0.290$) i, per tant, totes les rates van recórrer les mateixes distàncies per arribar a la plataforma.

Taula 13. Descriptius estadístics de la variable Longitud recorreguda per trobar la plataforma per cada grup experimental en la fase test del LAM.

Estadístics descriptius

Grup	N	Mitjana	Desviació estàndard	Error estàndard	Interval de confiança al 95%	
					Límit inferior	Límit superior
Old_RC	19	3911,5526	770,48982	176,76249	3540,1884	4282,9168
Old_AL	11	3491,2427	1218,61790	367,42712	2672,5641	4309,9214
Young	16	3473,7219	793,15842	198,28961	3051,0776	3896,3662

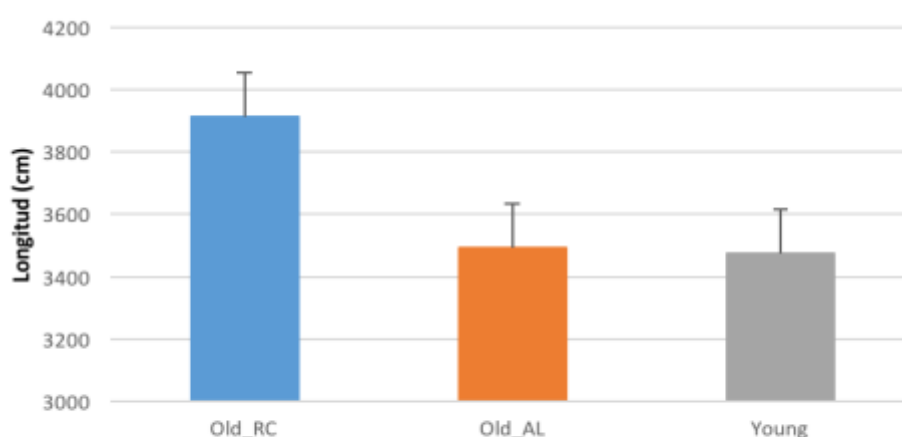


Figura 16. Mitjana (+EE) de longitud recorreguda per trobar la plataforma dels tres grups experimentals en la fase test del LAM.

Finalment, pel que fa a la distància en que les rates nadaven de la plataforma, la Taula 14 mostra les mitjanes, DS i EE de cada grup per la fase del test. L'ANOVA va mostrar que hi havia diferències significatives entre grups ($F_{[2,43]}=4.421$, $p=0.018$), concretament entre les Young i les rates del grup Old_AL ($p=0.014$), tal i com mostra l'anàlisi posthoc. Aquests resultats es poden observar en la Figura 17.

Taula 14. Descriptius estadístics de la variable Distància recorreguda cap a la plataforma per cada grup experimental en la fase test del LAM.

Estadístics descriptius

Grup	N	Mitjana	Desviació estàndard	Error estàndard	Interval de confiança al 95%	
					Límit inferior	Límit superior
Old_RC	19	210,3942	27,30879	6,26507	197,2318	223,5566
Old_AL	11	241,3891	50,75056	15,30187	207,2944	275,4838
Young	16	188,0725	58,27708	14,56927	157,0188	219,1262

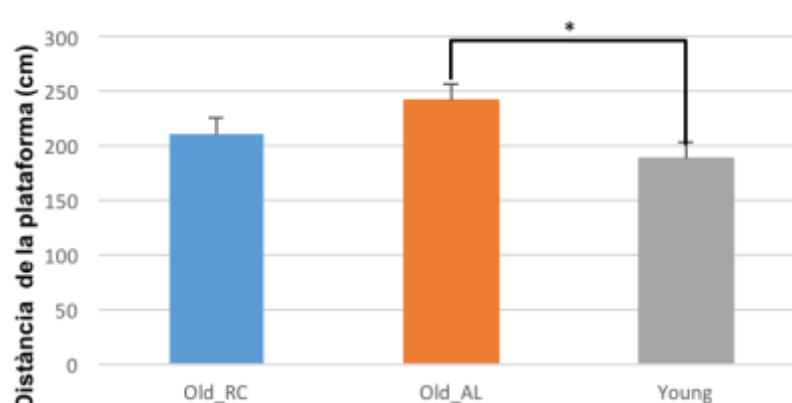


Figura 17. Mitjana (+EE) de distància recorreguda cap a la plataforma dels tres grups experimentals en la fase test del LAM. * $p<0,05$.

4.2.1.3. Fase de reversal

Respecte a la latència, la Taula 15 mostra les mitjanes, DS i EE de cada grup per la mitjana de les 3 sessions del reversal. Tot i així, l'ANOVA no va mostrar diferències significatives entre grups ($F_{[2,43]}=1.630$, $p=0.208$). En la Figura 18 s'observa un comportament molt semblant en els 3 grups, sobretot entre les rates dels grups Old_RC i Old_AL.

Taula 15. Descriptius estadístics de la variable Latència per cada grup experimental en les diferents sessions del reversal del LAM.

Estadístics descriptius						
Grup	N	Mitjana	Desviació estàndard	Error estàndard	Interval de confiança al 95%	
					Límit inferior	Límit superior
Old_RC	19	64,9804	18,17557	4,16976	56,2200	73,7407
Old_AL	11	65,1942	22,18455	6,68889	50,2905	80,0980
Young	16	53,8438	20,72492	5,18123	42,8002	64,8873

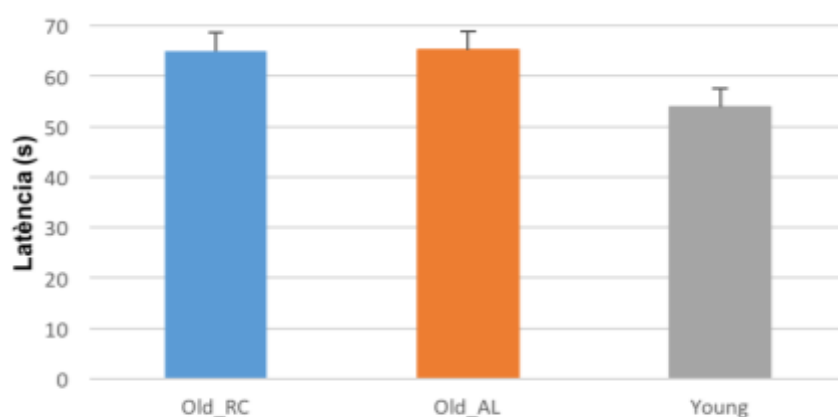


Figura 18. Mitjana (+EE) de latència dels tres grups experimentals en la fase reversal del LAM.

La Taula 16 mostra les mitjanes, DS i EE del temps que passaven les rates en el quadrant on abans hi havia la plataforma. En aquesta fase, l'ANOVA no va mostrar diferències estadísticament significatives entre grups ($F_{[2,43]}=0.302$, $p=0.741$). Per tant, els tres grups passaven el mateix temps en aquell quadrant, tal i com es mostra la Figura 19.

Taula 16. Descriptius estadístics de la variable Temps en el quadrant per cada grup experimental en les diferents sessions del reversal del LAM.

Estadístics descriptius						
Grup	N	Mitjana	Desviació estàndard	Error estàndard	Interval de confiança al 95%	
					Límit inferior	Límit superior
Old_RC	19	35,7443	12,31314	2,82483	29,8096	41,6791
Old_AL	11	33,7491	11,71650	3,53266	25,8778	41,6203
Young	16	32,8445	9,52840	2,38210	27,7672	37,9219

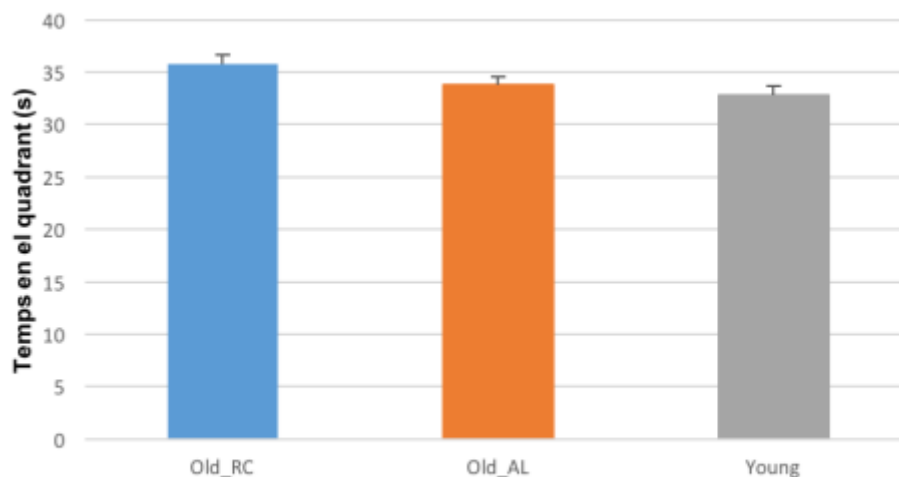


Figura 19. Mitjana (+EE) de temps en el quadrant dels tres grups experimentals en la fase reversal del LAM.

Respecte a la velocitat en la natació, en la Taula 17 s'observen les mitjanes, DS i EE per cada grup experimental. L'ANOVA va demostrar que no hi havia diferències significatives entre grups ($F_{[2,43]}=0.967$, $p=0.388$). Per tant, igual que es pot veure en la Figura 20, els tres grups tenen la mateixa capacitat motora.

Taula 17. Descriptius estadístics de la variable Velocitat de natació per cada grup experimental en les diferents sessions del reversal del LAM.

Estadístics descriptius

Grup	N	Mitjana	Desviació estàndard	Error estàndard	Interval de confiança al 95%	
					Límit inferior	Límit superior
Old_RC	19	56,2912	8,94537	2,05221	51,9797	60,6027
Old_AL	11	52,7742	8,39540	2,53131	47,1341	58,4143
Young	16	57,1821	7,62775	1,90694	53,1175	61,2466

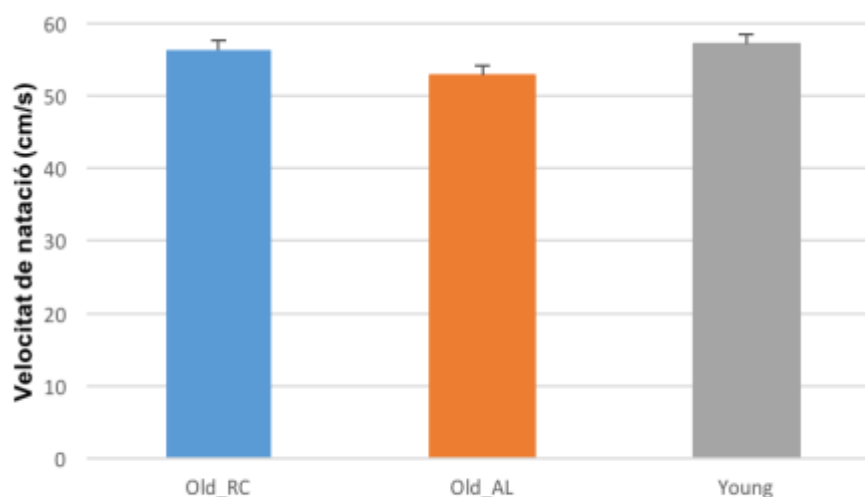


Figura 20. Mitjana (+EE) de velocitat de natació dels tres grups experimentals en la fase reversal del LAM.

Fent referència a la variable de tigmotaxis, veiem a la Taula 18 les mitjanes, DS i EE del temps que les rates passaven nedant en la paret de la piscina circular per cadascun dels grups. L'ANOVA va indicar que no hi havia diferències entre els grups ($F_{[2,43]}=0.598$, $p=0.554$), tal com es representa en la Figura 21, ja que s'observa una conducta molt similar.

Taula 18. Descriptius estadístics de la variable Tigmotaxis per cada grup experimental en les diferents sessions del reversal del LAM.

Estadístics descriptius

Grup	N	Mitjana	Desviació estàndard	Error estàndard	Interval de confiança al 95%	
					Límit inferior	Límit superior
Old_RC	19	24,5180	13,72260	3,14818	17,9040	31,1321
Old_AL	11	28,4536	18,83564	5,67916	15,7996	41,1076
Young	16	22,1193	12,85747	3,21437	15,2681	28,9706

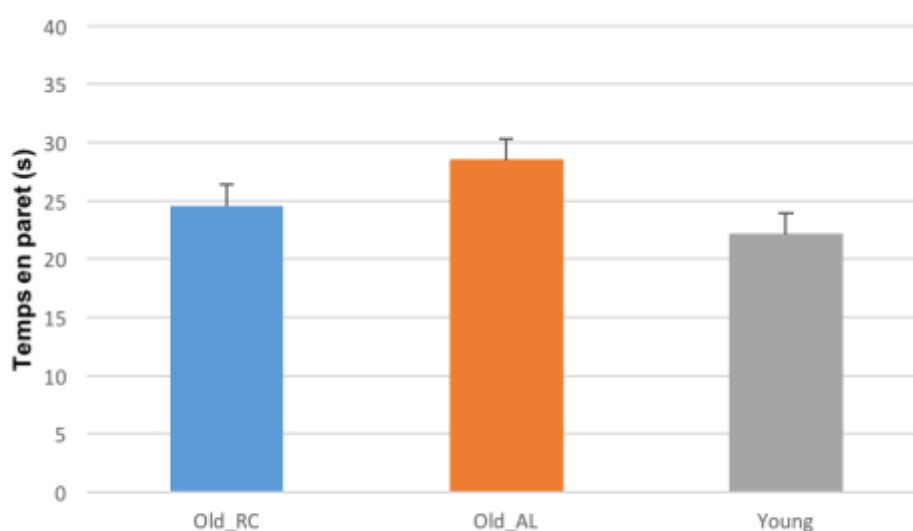


Figura 21. Mitjana (+EE) de temps a la paret dels tres grups experimentals en la fase reversal del LAM.

La Taula 19 mostra les mitjanes, DS i EE de la variable longitud recorreguda per cada grup experimental en la mitjana de les 3 sessions. L'ANOVA va mostrar que no hi havia diferències significatives entre grups ($F_{[2,43]}=0.835$, $p=0.441$) i, per tant, totes les rates van recórrer les mateixes distàncies per arribar a la plataforma.

Taula 19. Descriptius estadístics de la variable Longitud recorreguda per trobar la plataforma per cada grup experimental en les diferents sessions del reversal del LAM.

Estadístics descriptius

Grup	N	Mitjana	Desviació estàndard	Error estàndard	Interval de confiança al 95%	
					Límit inferior	Límit superior
Old_RC	19	3655,5714	1295,04516	297,10374	3031,3796	4279,7632
Old_AL	11	3496,2876	1442,43797	434,91141	2527,2446	4465,3306
Young	16	3090,6787	1223,69147	305,92287	2438,6196	3742,7379

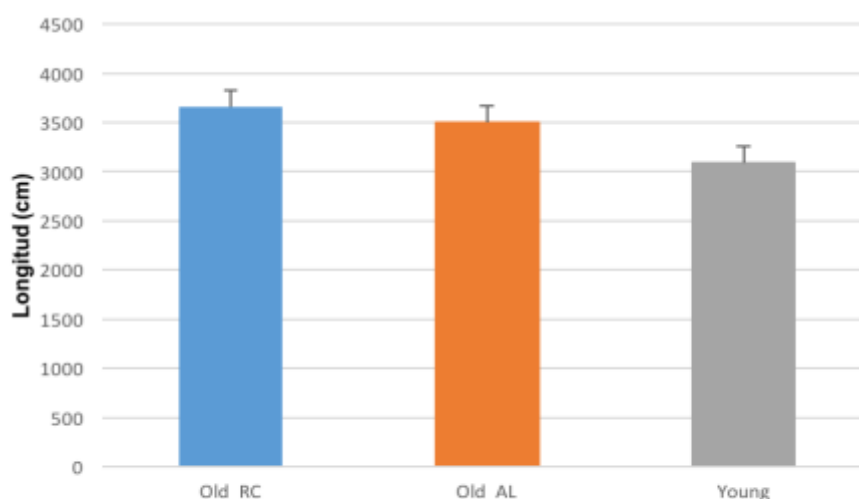


Figura 22. Mitjana (+EE) de longitud recorreguda per trobar la plataforma dels tres grups experimentals en la fase reversal del LAM.

Finalment, quant a la distància que neden les rates de la plataforma, la Taula 20 i la Figura 23 mostren les mitjanes, DS i EE de cada grup per la mitjana de les 3 sessions. L'ANOVA va mostrar que no hi havia diferències significatives entre grups ($F_{[2,43]}=0.165$, $p=0.849$) i, per tant, les rates nedaven a la mateixa distància.

Taula 20. Descriptius estadístics de la variable Distància recorreguda cap a la plataforma per cada grup experimental en les diferents sessions del reversal del LAM.

Estadístics descriptius

Grup	N	Mitjana	Desviació estàndard	Error estàndard	Interval de confiança al 95%	
					Límit inferior	Límit superior
Old_RC	19	214,5889	29,99127	6,88047	200,1336	229,0443
Old_AL	11	220,1918	41,75974	12,59104	192,1372	248,2464
Young	16	219,9752	25,82132	6,45533	206,2160	233,7344

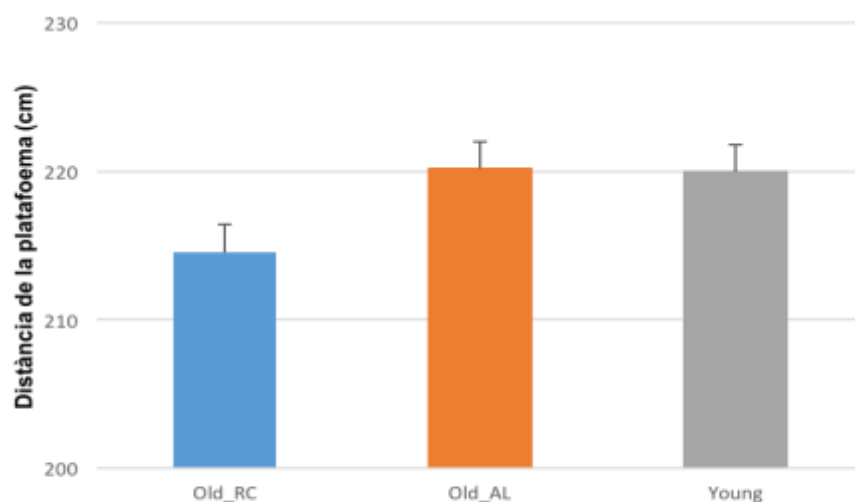


Figura 23. Mitjana (+EE) de distància recorreguda cap a la plataforma dels tres grups experimentals en la fase reversal del LAM.

4.2.2. Discriminació Simple d'Olors

Pel que fa a la latència en trobar el reforçador, a la Taula 21 mostra la mitjana, la DS i el EE de cada grup per la sessió d'adquisició (mitjana dels 4 assajos), el primer assaig de la sessió de test i la readquisició (mitjana dels 3 últims assajos). L'ANOVA va indicar diferències significatives entre sessions ($F_{[1.61,69.1]}=3.801$, $p=0.036$), però no entre grups ($F_{[2,43]}=1.488$, $p=0.237$) ni en la interacció grup per sessió ($F_{[3,21,69.10]}=1.385$, $p=0.253$). Per tant la latència en trobar el reforçador va ser similar en els diferents grups experimentals en les diferents sessions analitzades. A la Figura 24 es poden veure representades les mitjanes de latència.

Taula 21. Descriptius estadístics de la variable Latència per cada grup experimental en les diferents sessions de la DSO.

Sessió	Grup	N	Mitjana	Desviació estàndard	Error estàndard	Interval de confiança al 95%	
						Límit inferior	Límit superior
Mitjana sessions adquisició	Old_RC	19	76.2632	44.95526	11.377	53.318	99.208
	Old_AL	11	87.1136	49.40969	14.953	56.958	117.269
	Young	16	71.2031	54.75188	12.398	46.200	96.207
Sessió Test 1	Old_RC	19	64.316	63.9262	12.767	38.568	90.063
	Old_AL	11	90.727	56.3473	16.779	56.888	124.566
	Young	16	39.187	43.1002	13.913	11.130	67.245
Mitjana sessions 2,3 i 4 Test	Old_RC	19	94.2105	54.91162	13.157	67.678	120.744
	Old_AL	11	91.4242	60.05111	17.291	56.553	126.295
	Young	16	68.0208	58.35809	14.337	39.107	96.934

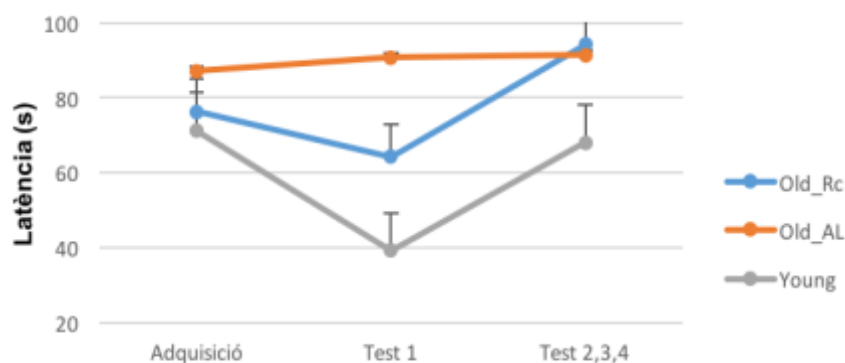


Figura 24. Evolució de la mitjana (+EE) de latència dels tres grups experimentals en les diferents fases de la DSO.

Pel que fa als errors, s'han analitzat els errors d'omissió i els de comissió de forma conjunta. A la Taula 22, s'observa la mitjana, la DS i el EE per cada grup en les diferents sessions. L'ANOVA va confirmar que no hi havia diferències significatives entre sessions ($F_{[1.52,65.44]}=0.999$, $p=0.355$), entre grups ($F_{[2,43]}=1.289$, $p=0.286$), ni en la interacció grup per sessió ($F_{[3.04,65.44]}=2.003$, $p=0.121$). A la Figura 25 s'observa que no es segueix cap tendència pel que fa a cometre errors entre els diferents grups i sessions.

Taula 22. Descriptius estadístics de la variable Errors per cada grup experimental en les diferents sessions de la DSO.

Estadístics descriptius

Sessió	Grup	N	Mitjana	Desviació estàndard	Error estàndard	Interval de confiança al 95%	
						Límit inferior	Límit superior
Mitjana sessions adquisició	Old_RC	19	0.8026	0.58677	2.211	0.505	1.101
	Old_AL	11	1.1818	0.74239	2.905	0.790	1.573
	Young	16	1.1250	0.63901	2.409	0.800	1.450
Sessió Test 1	Old_RC	19	0.842	1.0679	3.134	0.263	1.421
	Old_AL	11	1.455	1.9164	4.119	0.694	2.215
	Young	16	0.500	0.8165	3.415	-0.131	1.131
Mitjana sessions 2,3 i 4 Test	Old_RC	19	0.6842	0.58239	3.852	0.379	0.990
	Old_AL	11	0.6061	0.57384	5.062	0.205	1.007
	Young	16	1.0000	0.78881	4.197	0.667	1.333

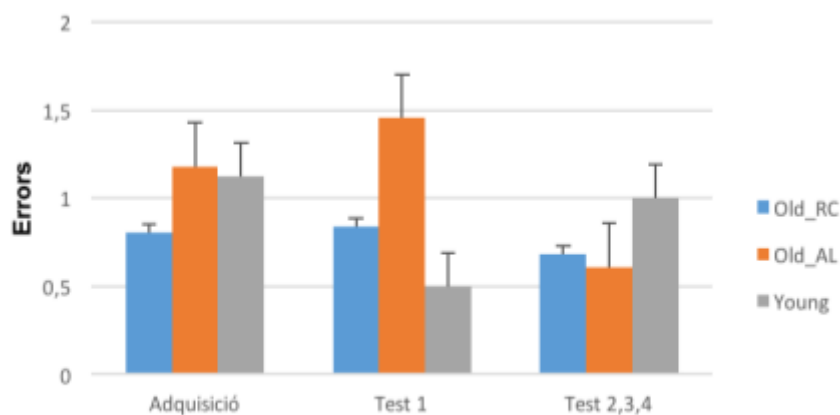


Figura 25. Mitjana (+EE) d'errors dels tres grups experimentals en les diferents fases de la DSO.

4.2.3. Test de la Galeta

En la Taula 23 es mostren les mitjanes, DS i EE del temps que les rates trigaven a trobar la galeta enterrada en la gàbia. L'ANOVA va mostrar que hi havia diferències significatives entre els grups ($F_{[2,43]}=9.214$, $p<0.001$) i l'anàlisi posthoc va indicar que les diferències eren entre les rates Old_AL i les Old_RC ($p=0.002$) i les rates AL i les Young ($p=0.001$). Aquestes dades també es poden observar en la Figura 26 on s'observa que les rates del grup Old_AL tardaven més en trobar la galeta enterrada i començar a menjar-se-la.

Taula 23. Descriptius estadístics de la variable Latència per cada grup experimental en el Test de la Galeta.

Estadístics descriptius

Grup	N	Mitjana	Desviació estàndard	Error estàndard	Interval de confiança al 95%	
					Límit inferior	Límit superior
RC	19	26,316	22,8207	5,2354	15,317	37,315
AdLib	11	81,000	70,1969	21,1652	33,841	128,159
Young	16	19,875	21,6822	5,4205	8,321	31,429

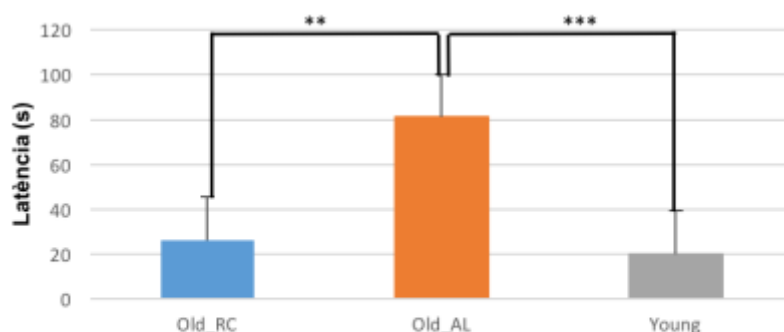


Figura 26. Mitjana (+EE) de la latència en trobar la galeta dels 3 grups experimentals en el Test de la Galeta. ** $p<0,01$ *** $p<0,001$.

5. DISCUSSIÓ

L'objectiu principal del present treball va ser observar els possibles efectes beneficiosos de la dieta amb RC en els processos d'aprenentatge i memòria en rates envellides. Per això es van comparar dos grups de rates que es van mantenir o bé, amb RC o bé amb alimentació AL des dels 4 fins als 24-27 mesos d'edat, amb un grup control de rates joves. Per dur a terme l'estudi es va utilitzar la prova del LAM, una tasca dependent de l'HPC, i la prova de la DSO, una tasca dependent del CP, ambdues estructures cerebrals molt sensibles al procés d'envelliment. En el LAM es va observar que els dos grups de rates envellides aprenien la tasca més lentament que les rates joves; però, a la prova de memòria al cap de 72 hores, les rates envellides amb RC van mostrar un millor record de la localització de la plataforma que les rates alimentades AL. Així, el grup Old_RC no es va diferenciar de les rates Young però tampoc del grup Old_AL. Pel que fa a la DSO, no s'han pogut demostrar efectes beneficiosos de la dieta amb RC en l'adquisició i el record d'aquesta tasca de naturalesa olfactiva, si bé les rates mantingudes en RC van mostrar un millor record que les rates del grup Old_AL.

Pel que fa a l'estat dels subjectes al llarg de l'experiment, es va observar que l'ordre en el qual es realitzaven les tasques no afectava significativament l'evolució del pes dels animals. Així, tant les rates que van fer primer LAM i a continuació la DSO com les que van fer primer DSO i després LAM van mostrar un augment del pes en les sessions del LAM i una disminució en la prova de DSO. Això és degut al fet que durant la prova de DSO les rates es van mantenir en condicions de reducció d'aliment. A l'anàlisi estadístic es va demostrar que les rates dels grups Young i Old_RC mostraven pesos similars, a diferència de les Old_AL que tenien un pes superior a les anteriors.

En la prova del LAM, es va observar que les rates del grup Young aprenien més ràpidament que les rates envellides ja que van mostrar latències més curtes per trobar la plataforma i van passar més temps en el quadrant on estava localitzada. No obstant això, en els 3 grups experimentals es va observar que a mesura que avançaven les sessions, la latència anava disminuint i el temps que passaven al quadrant augmentava. Aquests efectes no es poden atribuir a canvis en l'activitat motora ni tampoc al nivell d'ansietat, ja que els resultats d'ambdues variables va ser

molt similar en els 3 grups de rates. Pel que fa a la velocitat de natació, es va observar un increment en la sessió 2 i al llarg de la resta de sessions va anar disminuint, sobretot en les rates del grup Young. Això seria congruent amb el fet que ja hi havia hagut un aprenentatge i, per tant, sabien on trobar la plataforma. Per altra banda, pel que fa al nivell d'ansietat al llarg de les sessions, es va observar una disminució del temps que les rates nedaven al voltant de les parets de la piscina a mesura que aprenien la localització de la plataforma, fet que augmenta la confiança de les rates a l'hora de realitzar la prova. Finalment, es va observar que, al llarg de les sessions, la distància a la plataforma i la longitud recorreguda van anar disminuint progressivament en els 3 grups experimentals. No obstant això, les rates del grup Young es van diferenciar de les envellides en el fet que nedaven més directes, realitzaven un menor recorregut i nedaven a una distància més pròxima a la plataforma que les rates envellides. Aquests resultats semblen indicar que les rates envellides tenen més dificultats en aprendre la tasca que les rates joves, les quals, des de la segona sessió, mostren una major capacitat per localitzar la plataforma. Per tant, els possibles efectes beneficiosos de la dieta amb RC no semblen manifestar-se clarament en la sessió d'adquisició, ja que les rates del grup Old_RC obtenen resultats similars a les del grup Old_AL.

Els possibles efectes beneficiosos de la dieta amb RC en les rates envellides sembla evidenciar-se en la fase del test, on es va observar que les rates del grup Old_RC tenien un comportament semblant a les del grup Young, ja que van passar més del 25% del temps en el quadrant on hi havia la plataforma, a diferència de les rates del grup Old_AL que van romandre per igual en els quatre quadrants de la piscina circular. En relació amb la variable anterior, també es va detectar que les rates joves i les rates envellides amb dieta de RC nedaven a una distància de la plataforma semblant. Aquests efectes no són atribuïbles a canvis en l'activitat motora, al nivell d'ansietat ni a la longitud recorreguda, ja que els resultats d'aquestes variables van ser similars en els 3 grups de rates. Finalment, en la fase del reversal no es van observar diferències en cap de les variables analitzades pels 3 grups de rates.

Aquests resultats són congruents amb estudis previs en els quals es va observar que les rates envellides aprenien a localitzar la plataforma en el LAM més lentament

que les rates joves (Vicens, Redolat & Carrasco, 2003; Kennard & Woodruff-Pak, 2011). Així, pel que fa a les variables temps en el quadrant, longitud recorreguda i distància a la plataforma en l'adquisició, les rates joves obtenen en general millors resultats que les velles, posant de manifest els dèficits cognitius propis d'aquesta etapa vital (Gallagher, Burwell & Burchinal, 1993; Speisman et al., 2013). En altres estudis (Dong et al., 2015), on es va tenir en compte la dieta, es va observar, a la fase d'adquisició, que la latència per trobar la plataforma va anar disminuint progressivament en tots els grups, però més en el grup de rates mantingudes amb dieta RC que les mantingudes amb AL. En la fase de test, les rates AL passaven el mateix temps en el quadrant on estava la plataforma que en la resta de quadrants i, en canvi, les mantingudes amb dieta RC passen major temps en el quadrant on hi havia la plataforma en la fase d'adquisició, demostrant una millor memòria de la tasca (Dong et al., 2015). Les diferències observades en la fase d'adquisició entre les rates d'aquest estudi i el nostre podrien ser atribuïbles a l'edat dels animals utilitzats. Així, en aquest estudi previ les rates tenien 12 mesos i probablement, al ser adultes però no velles, encara no estaven tan afectades pel declivi cognitiu com les rates del nostre estudi que tenien entre 24-27 mesos d'edat. Finalment, i pel que fa a la prova del reversal, hi ha estudis (Vicens, Redolat & Carrasco, 2003; Sharma, Rakoczy & Brown-Borg, 2010) que demostren que un entrenament previ en tasques espacials podria reduir el declivi de la memòria espacial característic de l'envelliment. Aquest fet podria explicar els nostres resultats, ja que podria ser que les rates velles no es diferenciessin de les joves perquè l'entrenament en una activitat mnemònica prèvia hauria facilitat un nou aprenentatge amb independència de la dieta.

Tot i així, també s'han dut a terme estudis (Yanai, Okaichi & Okaichi, 2004) en els que es conclou que la dieta en RC perjudica les funcions cognitives en la vellesa, ja que les rates envellides sota condicions de RC van obtenir pitjors resultats que les rates mantingudes AL, tant en adquisició com en el test del LAM. Els autors van explicar aquests resultats indicant que els nivells de glucosa, una molècula imprescindible per un bon funcionament cerebral, de les rates envellides amb aquest tipus de dieta eren molt baixos.

Una possibilitat per millorar l'execució de les rates envellides en el LAM podria haver consistit a fer una habituació a l'aigua de la piscina abans d'iniciar la prova per a reduir l'ansietat dels animals, tal com s'ha vist en alguns treballs previs (Sharma, Rakoczy & Brown-Borg, 2010). Tot i així, en el nostre experiment, com que no hem detectat diferències entre les rates joves i velles, aquesta variable no sembla ser crítica per explicar les diferències de memòria observades entre els subjectes experimentals. Una altra variable que també podria explicar les diferències entre grups podria ser les dificultats visuals que es produeixen amb l'envelliment i que podria interferir en l'execució del LAM a l'hora d'orientar-se a partir dels senyals que envolten la piscina circular (Kennard & Woodruff-Pak, 2011). Amb tot, es van observar diferències significatives en la prova del test entre les rates mantingudes amb RC i amb AL, el que indicaria que les possibles deficiències visuals degudes a l'envelliment no són suficients per explicar la pitjor execució de les rates envellides en el test.

Quant a la tasca de la DSO, que nosaltres sapiguem, és el primer treball que es fa en aquest sentit i, per tant, no hi ha estudis de referència que ens permetin comparar els resultats obtinguts. En la prova de DSO no es van observar diferències entre els 3 grups de rates pel que fa a la latència per trobar el reforçador i als errors comesos en cadascuna de les fases experimentals, adquisició i test. Probablement això és degut al fet que les rates del grup Old_AL es trobaven en un 89% del seu pes inicial en començar la DSO quan havien d'estar a un 85% per realitzar adequadament la prova. També podria ser resultat que és un model que requereix privació de menjar i pot no ser vàlid per mesurar l'efecte de la dieta amb RC. Amb tot, les rates del grup Old_RC sí van mostrar un record lleugerament millor que les rates del grup Old_AL en el primer assaig de la prova del test, el que indicaria que la dieta amb RC podria ser un factor beneficiós per la memòria durant l'envelliment també en tasques de memòria olfactiva. Finalment, pel que fa al test de la galeta que mesura la capacitat olfactiva, no es van observar diferències entre les rates del grup Old_RC i les del grup Young. Possiblement una dieta amb RC disminueix la pèrdua olfactiva que s'observa durant l'envelliment (Kovács, 2004; Robitsek, Fortin, Koh, Gallagher & Eichenbaum, 2008). Tot i així, aquest fenomen no va afectar els resultats obtinguts en la prova de DSO perquè no es van observar diferències entre els 3 grups experimentals.

Per tant, els resultats obtinguts en aquest treball recolzen parcialment la hipòtesi inicial que afirmava que la dieta amb RC retarda l'aparició del declivi cognitiu típic de l'envelliment normal. Així, en el LAM si bé les rates envellides van mostrar una adquisició més lenta de la prova comparada amb la de les rates joves, a la prova de memòria avaluada en la fase del test, les rates velles mantingudes amb una dieta amb RC van mostrar un millor record que les rates AL i semblant a la de les rates joves. En la prova de la DSO els resultats són menys determinants, probablement perquè un model d'aprenentatge i memòria basat en l'olfacte no seria el més adient per avaluar els efectes beneficiosos de la dieta amb RC en la memòria. Per tant, seria interessant seguir explorant aquesta hipòtesi utilitzant altres models i proves conductuals per anar estudiant si els efectes de la dieta amb RC durant l'envelliment són diferents en funció de la prova cognitiva utilitzada.

Els estudis actuals sobre els possibles efectes beneficiosos d'una dieta amb RC al llarg de la vida són encara insuficients per arribar a conclusions clares (Gallagher, Stocker & Koh, 2011). En general, per avaluar els efectes de la dieta amb RC s'ha utilitzat bàsicament el LAM amb resultats normalment bastant positius, si bé és necessari ampliar el ventall de proves conductuals per germanitzar els possibles efectes beneficiosos de la dieta amb RC sobre la memòria. Actualment podem afirmar que hi ha evidències que la dieta amb RC allarga l'esperança de vida i preveu l'aparició de patologies però encara no està clar en quina mesura beneficia a la funció cognitiva. Això és important en una societat on l'esperança de vida va incrementant ja que augmenta la població de gent gran i, consegüentment, l'aparició de malalties neurodegeneratives. Per tant, la dieta amb RC podria reduir l'aparició d'aquestes malalties, reduir el deteriorament cognitiu típic de la vellesa i millorar la qualitat de vida d'aquestes persones. Per això, caldria més investigació per estudiar la relació entre aquest tipus de dieta i el deteriorament cognitiu en la vellesa per determinar els seus beneficis (Gallagher, Stocker & Koh, 2011; D'Hooge & De Deyn, 2001).

En relació a línies d'investigació futures veiem convenient aprofitar el coneixement que es té sobre els nutrients beneficiosos per les funcions cognitives per comparar una dieta poc saludable (alta en greixos saturats) amb una dieta més saludable (amb polifenol, omega 3...), ja que el nostre estil de vida promou hàbits alimentaris

inadequats que podrien contribuir negativament en el procés de deteriorament cognitiu propi de la vellesa (Murphy, Pereira & Thuret, 2014). També seria interessant investigar quins canvis s'han produït a nivell cerebral com a resultat de l'alimentació, ja que hi ha estudis que han conclòs que les rates amb una millor memòria espacial eren aquelles que mostraven majors taxa de neurogènesi en l'HPC (Speisman et al., 2013).

6. **CONCLUSIONS**

- La dieta amb RC no va millorar l'adquisició del LAM de les rates velles, ja que ambdós grups d'animals envellits, tant amb RC com amb AL, van adquirir la tasca més lentament que les rates joves.
- La dieta amb RC durant tota la vida sí que va beneficiar la memòria espacial de les rates envellides en el LAM. Els subjectes del grup Old_RC va passar més d'un 25% del temps en el quadrant on estava abans la plataforma i no van mostrar diferències amb les rates joves.
- En el test del reversal del LAM els 3 grups de rates van aprendre la nova ubicació de la plataforma de manera similar.
- Els resultats obtinguts en el LAM no es poden atribuir a altres variables com l'ansietat i l'activitat motora perquè no es van observar diferències entre rates joves i velles.
- La DSO no ha resultat ser una prova adient per mesurar l'efecte de la dieta amb RC en rates envellides ja que els tres grups experimentals van mostrar un patró d'adquisició i record de la tasca molt similar.
- El test olfatori indica que la dieta amb RC redueix el declivi de la funció olfàctòria característic de la vellesa.

- Els resultats obtinguts semblen recolzar la hipòtesi inicial que la dieta amb RC podria beneficiar la memòria durant l'envelliment retardant el declivi cognitiu propi de l'edat, almenys en les tasques de tipus espacial dependents de l'hipocamp.

7. AGRAÏMENTS

En primer lloc agrair a la nostra tutora del treball Margarita Martí el recolzament, l'ajuda i la motivació que ens ha aportat al llarg de tot el treball. Agraïm la seva implicació i constància, així com tot el que ens ha permès aprendre aquesta experiència.

Seguidament, també volem expressar el nostre agraïment a Divka Rojic per deixar-nos participar en el seu estudi i observar com es du a terme la feina en el laboratori. Així com ajudar-nos a resoldre les dificultats que s'han anat presentant al llarg de l'estudi. La seva col·laboració i continua disponibilitat ha fet la nostra tasca més fàcil.

En general, agrair a totes les persones que amb la seva participació ha fet possible aquest treball.

8. **BIBLIOGRAFIA**

Bishop, N. A., Lu, T., & Yankner, B. A. (2010). Neural mechanisms of ageing and cognitive decline. *Nature*, 464(7288), 529–535.

Bizon, J. L., Foster, T. C., Alexander, G. E., & Glisky, E.L. (2012). Characterizing cognitive aging of working memory and executive function in animal models. *Frontiers in Aging Neuroscience*, 4(19), 1-14.

Carretié, L., López-Martín, S., & Albert, J. (2010). Papel de la corteza prefrontal ventromedial en la respuesta a eventos emocionalmente negativos. *Revista de Neurologia*, 2010(50), 245-52.

Countryman, R.A. & Gold, P.E. (2007). Rapid forgetting of social transmission of food preferences in aged rats: relationship to hippocampal CREB activation. *Learning Memory*, 14(5), 350-358.

D'Hooge, R. & De Deyn, P. (2001). Applications of the Morris water maze in the study of learning and memory. *Brain Research Reviews*, 36, 60-90.

Dong et al. (2015). Influence of age-related learning and memory capacity of mice: different effects of a high and low caloric diet. *Aging Clinical and Experimental Research*, 28(2), 303-311.

Gallagher, M., Burwell, R., & Burchinal, M. (1993). Severity of spatial learning impairment in aging: development of a learning index for performance in the Morris water maze. *Behavioural Neuroscience*, 107(4), 618-626.

Gallagher, M., Stocker, A. M., & Koh, M. T. (2011). Mindspan: Lessons from Rat Models of Neurocognitive Aging. *ILAR Journal*, 52(1), 32-40.

Gould, E., Beylin, A., Tanapat, P., Reeves, A., & Shors, T. J. (1999). Learning enhances adult neurogenesis in the hippocampal formation. *Nature Neuroscience*, 2(3), 260–265.

Izquierdo, A. (2001). Envejecimiento cerebral normal. *Mexican Journal of Neuroscience*. 2 (4), 197-202.

Jodar et al. (2013). *Neuropsicología*. Barcelona: Editorial UOC.

- Kennard, J. A., & Woodruff-Pak, D. S. (2011). Age sensitivity of behavioral tests and brain substrates of normal aging in mice. *Frontiers in Aging Neuroscience*, 3(9), 1-22.
- Kovács, T., (2004). Mechanisms of olfactory dysfunction in aging and neurodegenerative disorders. *Ageing Res Rev*, 3, 215-232
- Lee, S. W., Clemenson, G. D., & Gage, F. H. (2012). New neurons in an aged brains. *Behavioural Brain Research*, 227(2), 497-507.
- Morrison, J. H., & Baxter, M. G. (2012). The ageing cortical synapse: hallmarks and implications for cognitive decline. *Nature Reviews. Neuroscience*, 13(4), 240–50.
- Murphy, T., Pereira, G., & Thuret, S. (2014). Effects of Diet on Brain Plasticity in Animals and Human Studies: Mind the Gap. *Neural Plasticity*, 2014, 1-32.
- Nabavi et al. (2014). Engineering a memory with LTD and LTP. *Nature*, 511(7509), 348-352.
- Olivares, J. D., Juárez, E., & García, F. (2015). El hipocampo: neurogénesis y aprendizaje. *Revista Médica de la Universidad Veracruzana*, 15(1), 20-28.
- Portero-Tresserra, M., Martí-Nicolovius, M., Guillazo-Blanch, G., Boadas-Vaello, P., & Vale-Martínez, A. (2012). D-cycloserine in the basolateral amygdala prevents extinction and enhances reconsolidation of odor-reward associative learning in rats. *Neurobiology of Learning and Memory*, 100, 1-11.
- Prados, J., & Trobalon, J. B. (1998). Locating an invisible goal in a water maze requires at least two landmarks. *Psychobiology*, 26(1), 42–48.
- Prolla, T. & Mattson, M. (2001). Molecular mechanisms of brain aging and neurodegenerative disorders: lessons from dietary restriction. *Trends in Neurosciences*, 24(11), 21-31.
- Roberson et al. (2012). Challenges and opportunities for characterizing cognitive aging across species. *Frontiers in Aging Neuroscience*, 4(6), 1-6.

Robitsek, R. J., Fortin, N. J., Koh, M. T., Gallagher, M., & Eichenbaum, H. (2008). Cognitive aging: a common decline of episodic recollection and spatial memory in rats. *J. Neurosci*, 28, 8945–8954.

Samson, R. D., & Barnes, C. A. (2013). Impact of aging brain circuits on cognition. *European Journal of Neuroscience*, 37(12), 1903–1915.

Sharma, S., Rakoczy, S., & Brown-Borg, H. (2010). Assessment of spatial memory in mice. *Life Sciences*, 87(17-18), 521–536.

Shi, L., Adams, M., & Brunso-Bechtold, J.K. (2007). Subtle Alterations in Glutamatergic Synapses Underlie the Aging-Related Decline in Hippocampal Function. En D. R. Riddle (Ed.). *Brain Aging* (cap. 8). Winston-Salem: Wake Forest University School of Medicine.

Speisman et al. (2013). Environmental enrichment restores neurogenesis and rapid acquisition in aged rats. *Neurobiol Aging*, 34(1), 263-274.

Torras-Garcia, M., Lelong, J., Tronel, S., & Sara, S. J. (2015). Reconsolidation after remembering an odor-reward association requires NMDA receptors. *Learning & Memory*, 12, 18-22.

Tronel, S., & Sara, S. J. (2002). Mapping of Olfactory Memory Circuits: Region-Specific c-fos Activation After Odor-Reward Associative Learning or After Its Retrieval. *Learning & Memory*, 9, 105-111.

Vicens, P., Redolat, R., & Carrasco M. C. (2003). Aprendizaje espacial y laberinto de agua: metodología y aplicaciones. *Psicothema*, 15(4), 539-544.

Yanai, S., Okaichi, Y., & Okaichi, H. (2004). Long-term dietary restriction causes negative effects on cognitive functions in rats. *Neurobiology of aging*, 25, 325-332.

Yankner, B. A., Lu, T., & Loerch, P. (2008). The aging brain. *Annual Review of Pathology*, 3, 41–66.

RESUM EXECUTIU: EFECTES DE LA RESTRICCIÓ CALÒRICA EN L'APRENTATGE I LA MEMÒRIA DURANT L'ENVELLIMENT

Agents clau

Aquest projecte va dirigit a centres de recerca bàsica en neurociències interessats en conèixer els factors que permeten l'atenuació del declivi cognitiu típic en l'envelliment. També a fundacions que col·laboren en la investigació de malalties neurodegeneratives interessades en finançar estudis per buscar fórmules que permetin potenciar l'envelliment saludable. A més, al tractar-se d'un tema de salut pública, també aniria dirigit als Departaments de Salut Pública dels Governos interessats en polítiques de prevenció de malalties i promoció de la salut.

Introducció

Els avenços en medicina dels últims anys han desembocat en una disminució de la mortalitat i, per tant, en un augment de la població senil. Aquesta situació ha contribuït a un increment de la prevalença de malalties neurodegeneratives que s'acompanyen de deteriorament cognitiu ja que el procés d'envelliment suposa el seu principal factor de risc. Per aquest motiu, és important conèixer els mecanismes biològics de l'envelliment ja que això permetria retardar el deteriorament cognitiu típic d'aquesta etapa.

Les principals funcions cognitives afectades són l'aprenentatge i la memòria i això és degut als canvis morfològics i fisiològics que es produeixen a l'hipocamp (situat al lòbul temporal) i l'escorça prefrontal (situat al lòbul frontal), dues àrees cerebrals implicades en la memòria declarativa i la de treball respectivament. Durant l'envelliment, en aquestes àrees, s'ha observat una disminució de les connexions sinàptiques, de la generació de noves neurones a l'hipocamp, de fenòmens de plasticitat sinàptica com la potenciació a llarg termini i del volum cerebral, degut a una alteració en la transcripció dels gens relacionats amb la plasticitat neuronal en resposta a mutacions en el DNA i a l'estrès oxidatiu.

Per alentir aquest procés neurodegeneratiu calen factors ambientals que interaccionin amb els factors genètics, i un d'aquests factors podria ser la dieta que ingerim al llarg de la vida, ja que s'ha observat que la dieta amb restricció calòrica (RC) promou l'expressió dels gens implicats en la plasticitat sinàptica, disminueix els nivells d'estrès oxidatiu, redueix l'atròfia cerebral, promou la neurogènesi, reverteix els mecanismes de potenciació a llarg termini típics de la vellesa i afecta, de forma favorable, a l'aprenentatge i la memòria.

Per aquest motiu, l'objectiu principal del nostre treball ha estat estudiar els possibles efectes beneficiosos de la dieta amb RC en rates envellides i la seva relació amb l'aprenentatge i la memòria.

Metodologia

En aquest treball, la hipòtesi de partida és que la dieta hipocalòrica retarda l'aparició del declivi cognitiu que es produeix durant l'envelliment normal. Per posar-la a prova es van crear 3 grups experimentals: 19 rates envellides amb dieta amb RC (Old_RC), 12 rates envellides que menjaven el que volien (Old_AL) i 16 rates joves com a grup control (Young). Els 3 grups es van sotmetre a 2 proves conductuals que avaluen la capacitat d'aprenentatge i memòria: el laberint aquàtic de Morris (LAM) i la discriminació simple d'olors (DSO).

El LAM permet estudiar la memòria espacial dependent de l'hipocamp i consisteix en una piscina circular opaca envoltada de senyals que serveixen per orientar a la rata, la qual haurà de nadar fins trobar una plataforma. En la fase d'adquisició la plataforma està sempre al mateix lloc i l'objectiu és que la rata aprengui a trobar-la (Figura 1). 72 hores després es fa la fase del test que consisteix en treure la plataforma i observar el temps que la rata està dins el quadrant on estava abans la plataforma per determinar si recorda la seva localització. Finalment, en la fase reversa es col·loca la plataforma al quadrant oposat al de l'adquisició i s'observa quant triga en aprendre la nova localització.

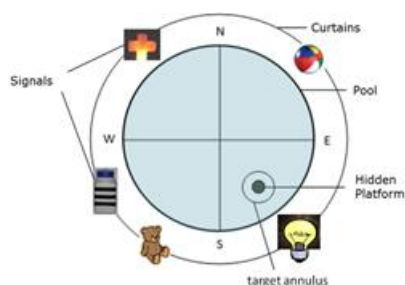


Figura 1: Fase d'adquisició LAM. La imatge mostra la piscina circular envoltada de senyals i dividida en 4 quadrants (nord, sud, est i oest). La plataforma està situada en el quadrant sud-est en tots els assajos.

Per altra banda, la DSO, permet estudiar la memòria olfactiva i la memòria a curt termini dependent del còrtex prefrontal però requereix que prèviament les rates hagin estat sotmeses a reducció d'aliment fins aconseguir un 85-87% del seu pes inicial per garantir la motivació de la ingesta. Primer, la fase d'habitució permet que la rata s'habitui al reforçador (cereals *chococrispie*). Després, la fase d'adquisició, consisteix en discriminar entre 3 aromes diferents (taronja, anís i vainilla) injectades en 3 esponges i en associar una d'aquestes aromes al reforçador (Figura 2). 72 hores després comença la fase del test. En el primer assaig a l'esponja amb l'aroma que havia estat reforçada no s'hi han introduït els cereals però durant els 3 últims assajos sí. En aquest cas, la resistència a l'extinció es consideraria una mesura de retenció. Per complementar la DSO es va realitzar el test de la galeta que consisteix en amagar una galeta en una gàbia i cronometrar quant triga la rata en trobar-la amb l'objectiu de comprovar que l'olfacte no està alterat.

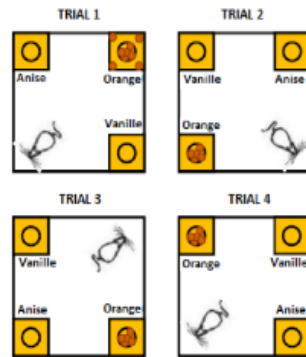


Figura 2: Fase d'adquisició DSO.

La imatge mostra els 4 assajos de l'adquisició, on a cadascun el patró va canviant. En aquest cas, l'aroma reforçada és la taronja.

Les dades recollides van ser analitzades amb SPSS v23. Concretament, les dades de l'adquisició del LAM i la DSO es van analitzar amb un ANOVA (anàlisi de la variància) de mesures repetides i les dades del test i el reversal en el LAM i del test de la galeta amb un ANOVA one-way. Quan es van detectar diferències significatives en l'ANOVA es va utilitzar la prova de comparacions múltiples de Bonferroni per comprovar entre quins grups hi havia les diferències. Finalment, es va realitzar un t-test del 25% per estudiar el temps que passaven les rates en el quadrant objectiu en la fase de test del LAM.

Resultats i discussió

En la fase d'adquisició del LAM, es van observar diferències en la latència per localitzar la plataforma entre sessions ($F_{[4,172]}=19.137$, $p<0.001$), entre grups ($F_{[2,43]}=14.512$, $p<0.001$) i en la interacció grup per sessió ($F_{[8,172]}=2.428$, $p=0.016$). Concretament, el grup de rates Young trigaven menys en trobar la plataforma respecte el grup Old_RC ($p<0.001$) i Old_AL ($p<0.001$) (Figura 3).

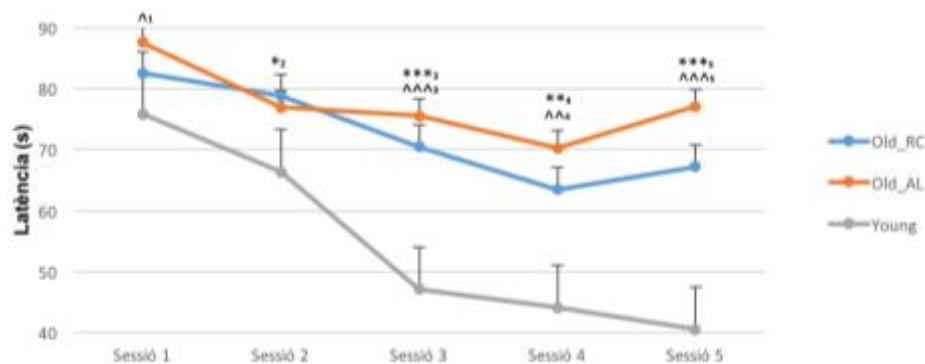


Figura 3: Evolució de la mitjana (+EE) de latència dels tres grups experimentals en cada sessió d'adquisició del LAM. Sessió 1: $^{\wedge}1p<0.05$ entre Young i Old_AL. Sessió 2: $^{\wedge}2p<0.05$ entre Young i Old_RC. Sessió 3: $^{*}3p<0.001$ entre Young i Old_RC; $^{^^^}3p<0.001$ entre Young i Old_AL. Sessió 4: $^{**}4p<0.01$ entre Young i Old_RC; $^{^^}4p<0.01$ entre Young i Old_AL. Sessió 5: $^{***}5p<0.001$ entre Young i Old_RC; $^{^^^}5p<0.001$ entre Young i Old_AL.**

Pel que fa al temps que les rates passaven en el quadrant on estava la plataforma, també es van observar diferències significatives entre sessions ($F_{[4,172]}=14.58$, $p<0.001$) i entre grups ($F_{[2,43]}=23.913$, $p<0.001$) ja que les rates del grup Young hi passaven més temps que les del grup Old_RC ($p<0.001$) i Old_AL ($p<0.001$). Finalment, en quant a la distància recorreguda per les rates fins arribar a la plataforma, també es van observar diferències significatives entre grups ($F_{[2,43]}=6.023$, $p=0.005$), sessions ($F_{[4,172]}=15.218$, $p<0.001$) i en la interacció grup per sessió ($F_{[8,172]}=3.616$, $p=0.001$), ja que el grup de rates Young realitzava un menor recorregut que les del grup Old_AL ($p=0.012$) i Old_RC ($p=0.017$). No obstant, al llarg de les sessions tots els grups augmentaven el temps en el quadrant i disminuïen la latència i la longitud recorreguda. Per tant, els tres grups van aprendre però les rates envellides més lentament. Els possibles efectes beneficiosos de la dieta amb RC no semblen evidenciar-se en aquesta fase ja que el grup de rates Old_RC va obtenir resultats similars al grup Old_AL. En canvi, aquests efectes sí que es fan evidents en la fase del test ja que es van observar diferències significatives ($F_{[2,43]}=4.985$, $p=0.011$) entre el grup de rates Young i Old_AL ($p=0.009$) però no amb Old_RC (Figura 4), mostrant aquestes últimes un millor record de la localització de la plataforma que les rates alimentades AL. Tant el grup de rates Young ($p=0.002$) com el Old_RC ($p<0.001$) van passar més del 25% del temps en el quadrant on hi havia abans la plataforma, no ho van fer així el grup Old_AL.

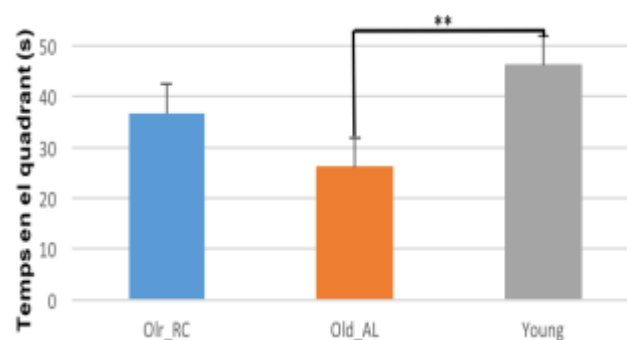


Figura 4: Mitjana (+EE) de temps en el quadrant pels tres grups experimentals en la fase test del LAM. ** $p<0.01$.

Finalment, en la fase del reversal no es van observar diferències en cap de les variables pels 3 grups experimentals. Probablement les rates velles no es diferencien de les joves perquè les fases anteriors van suposar un entrenament en tasques mnemòniques que podria haver facilitat un nou aprenentatge amb independència de la dieta. Cal tenir en compte que les diferències trobades en aquesta prova no han estat afectades per l'activitat motora ni pel nivell d'ansietat ja que els 3 grups passaven el mateix temps a prop de la paret de la piscina i nadaven

a la mateixa velocitat. Aquests resultats són congruents amb altres estudis previs en els que també s'observa un efecte beneficiós de la dieta amb RC en el LAM.

Pel que fa a la DSO, no es van trobar diferències significatives entre grups pel que fa a la latència per trobar el reforçador i als errors comesos. Probablement això és degut a que les rates del grup Old_AL es trobaven al 89% del seu pes inicial en comptes d'estar al 85-87% i a que es tracta d'un model que requereix de privació de menjar que podria no ser vàlid per mesurar l'efecte de la dieta amb RC. No obstant això, el grup de rates Old_RC va mostrar un record lleugerament millor que el grup Old_AL. Finalment, el test de la galeta va evidenciar diferències ($F_{[2,43]}=9.214$, $p<0.001$) entre el grup de rates Old_AL i el grup Young ($p=0.001$) i Old_RC ($p=0.002$). És a dir, aquesta dieta disminueix la pèrdua olfactiva que s'observa habitualment durant l'envelliment, però això no va afectar als resultats obtinguts en la DSO. En resum, amb aquesta prova no s'han pogut demostrar efectes beneficiosos de la dieta amb RC durant l'envelliment, fet que no podem comparar amb altres estudis al tractar-se del primer treball que es fa amb aquest model conductual.

Per tant, els resultats obtinguts recolzen parcialment la hipòtesi inicial ja que en la prova del LAM el grup Old_RC aprèn igual que el grup Old_AL però recorden millor i en la prova de DSO els resultats són poc determinants.

Els estudis actuals sobre els possibles efectes beneficiosos d'una dieta amb RC al llarg de la vida són encara insuficients per arribar a conclusions clares. Seria interessant seguir explorant aquesta hipòtesi però utilitzant altres models i proves conductuals, tenint en compte els nutrients que componen la dieta i estudiant els canvis que aquesta produeix en el cervell. Això és important en una societat en la que hi ha un increment de població de gent gran i en la que es promouen hàbits alimentaris inadequats ja que la dieta amb RC podria reduir l'aparició de malalties neurodegeneratives i el deteriorament cognitiu típic de la vellesa i millorar la qualitat de vida d'aquestes persones.

Número de paraules: 1798.

RESUM EXECUTIU: EFECTES DE LA RESTRICCIÓ CALÒRICA EN L'APRENTATGE I LA MEMÒRIA DURANT L'ENVELLIMENT

Agents clau

Aquest resum podria anar dirigit al director d'algun institut d'investigació de malalties neurodegeneratives, ja que els resultats d'aquest treball, obren una línia d'investigació sobre possibles efectes protectors d'una dieta amb restricció calòrica en el declivi cognitiu, que s'observa en l'envelliment. D'altra banda, també podria ser d'interès per Institucions que financin estudis d'investigació relacionats amb la salut, ja que actualment hi ha una alta prevalença de malalties neurodegeneratives, de les quals es desconeixen tractaments curatius i és imprescindible la investigació.

Introducció

Actualment, a causa dels grans avenços mèdics, l'esperança de vida va incrementant i això comporta un augment de la població senil. L'envelliment en si, és un factor de risc pel desenvolupament de malalties neurodegeneratives i demències, com l'Alzheimer, amb una prevalença del 50% en adults majors de 85 anys.

En l'envelliment, es produeixen múltiples canvis a nivell del SNC que contribueixen al deteriorament de les funcions cognitives, com l'aprenentatge i la memòria. Això és degut, en part, a canvis morfològics i fisiològics en l'hipocamp (HPC) i el còrtex prefrontal (CP), dues estructures cerebrals implicades en aquestes funcions cognitives, que es veuen alterades per l'estrès oxidatiu i canvis en l'expressió gènica que regula els mecanismes de plasticitat neuronal.

L'HPC es relaciona amb la memòria declarativa, la qual inclou la memòria espacial, en canvi el CP, és una relaciona amb la memòria de treball. Els processos d'aprenentatge i memòria impliquen canvis en el SN, per tant és fonamental la plasticitat sinàptica. A l'HPC, durant l'envelliment, es redueixen els nivells de generació de noves neurones (neurogènesi), a més es produeixen canvis a nivell de les sinapsis que afecten el mecanisme de potenciació a llarg termini, ambdós són mecanismes que contribueixen críticament a la plasticitat sinàptica. En el CP, a més de les alteracions a nivell de les sinapsis es produeix alteració de la mielina que provoca una desconexió entre el CP i altres regions del cervell implicades en el procés de memòria. Tots aquests canvis, tant a nivell cel·lular com sinàptic estan associats al declivi cognitiu que es produeix durant l'envelliment.

Hi ha evidències experimentals que una dieta amb restricció calòrica (RC) actua com a factor protector reduint el nivell de deteriorament cognitiu i el desenvolupament de malalties neurodegeneratives, ja que promou l'expressió de gens que estan involucrats en la plasticitat sinàptica, augmenta l'activitat sinàptica, disminueix els nivells d'estrès oxidatiu, augmenta la neurogènesi en l'HPC i

incrementa el fenomen de potenciació a llarg termini.

Per tot això, l'objectiu principal del treball va ser estudiar els possibles efectes beneficiosos, a nivell conductual, d'una dieta amb RC en rates envellides i com es relaciona amb l'aprenentatge i la memòria. La hipòtesi plantejada va ser que el declivi cognitiu que es produeix durant l'envelliment normal podria estar modulats pel nivell de calories ingerides al llarg de la vida.

Els objectius específics van ser:

- Avaluar els efectes de l'edat en l'execució d'una tasca dependent de l'HPC com el Laberint aquàtic de Morris (LAM) en comparació a rates joves.
- Avaluar els efectes de l'edat en l'execució d'una tasca dependent del CP com la Discriminació simple d'olors (DSO) en comparació a rates joves.
- Comprovar si una dieta amb RC redueix el dèficit de memòria que es pot observar en les dues tasques, LAM i DSO, en les rates envellides.

Mètode

En la realització d'aquest estudi es va utilitzar una mostra de 47 rates mascles Wistar. Aquesta mostra es va dividir en tres grups: un grup de rates envellides en condició de RC (Old_RC), un altre grup envellit en Ad Libitum (Old_AL) i un grup control de rates joves que no van estar sotmeses a control alimentari (Young). Tots els grups van realitzar dues proves conductuals, el LAM i la DSO.

El **LAM**, és una prova que permet avaluar l'aprenentatge espacial i la memòria dependent d'HPC (veure Figura 1). Aquesta prova consta de 3 fases: Adquisició, Test i Reversal. En l'Adquisició la rata ha d'aprendre on es troba la plataforma submergida. S'espera que a mesura que es realitzen els assajos, vagi disminuint la latència en trobar la plataforma i que la rata nedi més directament cap a la plataforma. En la fase de Test, es retira la plataforma i permet observar si hi ha memòria de l'aprenentatge. Seguidament al test, es duu a terme el Reversal, en aquesta fase la plataforma es localitza en el quadrant oposat al de l'adquisició, amb l'objectiu d'observar quant triga a aprendre la nova localització.

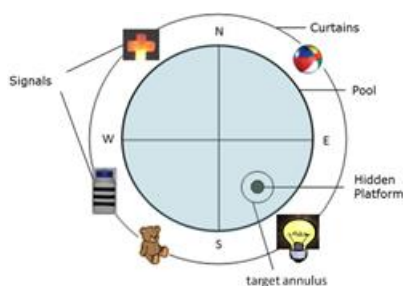


Figura 1: Representació esquemàtica del LAM. El LAM està dividit en 4 quadrants: Nord (N), Sud (S), Est (E) i Oest (W). La plataforma es troba en el quadrant SE per a tots els assajos. La piscina està envoltada de diferents estímuls visuals que sempre es localitzen en la mateixa posició i està aïllada a través d'una cortina.

Pel que fa a la **DSO**, és una prova que permet estudiar la memòria olfactiva i la memòria a curt termini. Consisteix a discriminar entre tres aromes injectades en tres esponges i en associar un dels 3 aromes (taronja, anís i vainilla) a un reforçador (cereal), l'aprenentatge es mesura cronometrant el temps que triga a menjar el cereal i comptabilitzant errors d'omissió i comissió. Durant aquesta prova totes les rates han estat sotmeses a reducció d'aliment per garantir la motivació per la ingesta. Aquesta prova consta de 3 fases: Habitució, Adquisició i Test. En l'Habitució, s'aconsegueix que la rata s'habitui al reforçador i relacioni el menjar amb la zona d'adquisició. L'endemà, té lloc l'adquisició, permet a la rata associar el reforçador amb una aroma i a consolidar la memòria, entre assajos es va canviant el patró de la localització de les esponges, però l'aroma reforçada sempre és la mateixa (veure Figura 2). El test, permet observar si hi ha memòria olfactiva a curt termini.

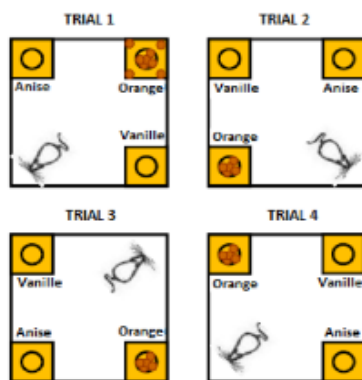


Figura 2. Fase d'adquisició DSO

Es mostra els 4 assajos que duu a terme una rata en la fase d'adquisició, on a cadascun d'ells el patró va canviant. En aquest cas l'aroma reforçada és la taronja.

Complementàriament a la DSO, es realitza el Test de la Galeta, és una prova per comprovar que l'olfacte no estigui alterat.

Resultats i discussió

Pel que fa a la fase d'Adquisició del LAM, els resultats estadístics van mostrar diferències significatives entre grups ($F_{[2,43]}=14.512$, $p<0.001$) en el temps en arribar a la plataforma, entre el grup Young i les Old_AL i Old_RC (ambdues $p<0.001$), la latència és menor en rates joves i aquesta va disminuint entre sessions.

Quant al temps que passen nedant en el quadrant on està la plataforma, es van trobar diferències significatives entre grups ($F_{[2,43]}=23.913$, $p<0.001$), entre les Young i les Old_AL i Old_RC (ambdues $p<0.001$), les Young tenen un millor aprenentatge de la ubicació de la plataforma, al passar-hi més temps.

Finalment, en la variable longitud, que mesura la distància que recorren fins a arribar a la plataforma, es troben diferències significatives entre grups ($F_{[2,43]}=6.023$, $p=0.005$), entre les Young i les Old_AL i Old_RC ($p=0.012$ i $p=0.017$,

respectivament), sent les Young les que recorren menys longitud, neden més directament cap a la plataforma.

En la fase Test, s'observa diferències significatives entre grups ($F_{[2,43]}=4,985$, $p=0,11$), respecte al temps que passen en el quadrant on hi havia la plataforma, entre el grup Young i Old_AL ($p=0,009$) (veure Figura 3).

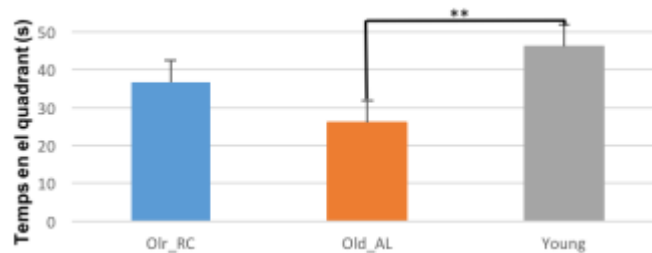


Figura 3. Mitjana (+EE) de temps en el quadrant pels tres grups experimentals en la fase test del LAM. ** $p<0,01$.

Per considerar que hi ha hagut memòria de l'adquisició s'estableix que han de passar més del 25% del temps total del Test en el quadrant on era la plataforma, les Young i les Old_RC van passar més del 25%. També es van trobar diferències significatives entre grups ($F_{[2,43]}=4,421$, $p=0,018$) pel que fa a la variable distància, entre les Young i les Old_AL ($p=0,014$), sent les Young les que neden a menys distància d'on s'ubicava la plataforma. En referència a la longitud no es van trobar diferències significatives entre grups.

Per tant, s'observa que les rates envellides aprenien més lentament que les joves, i que a la prova de memòria (el test) les Old_RC, a l'igual que les Young, mostraven millor record de la localització de la plataforma que les Old_AL. Aquests resultats no són atribuïbles a l'activitat motora ni al nivell d'ansietat de les rates, ja que no es van trobar diferències significatives entre grups en aquestes variables, obtenint els tres grups resultats similars en les diferents fases. Els nostres resultats són congruents amb estudis previs que mostren que les joves aprenen més ràpidament i que les rates en RC mostren més memòria que les alimentades en Ad Libitum.

D'aquesta manera, amb els resultats obtinguts en l'Adquisició, els efectes beneficiosos de la dieta amb RC no sembla manifestar-se clarament, ja que els dos grups de rates velles obtenen resultats similars. No obstant, els efectes sí semblen mostrar-se durant el test, ja que les Old_RC mostren un comportament similar a les Young, diferenciant-se de les Old_AL. **Per tant, es recolza parcialment la hipòtesi inicial, donat que la dieta en RC, tot i que no sembla mostrar beneficis en l'aprenentatge, sí que els mostra respecte a la memòria espacial dependent de l'hipocamp.**

En el Reversal, no s'han trobat diferències significatives en cap de les variables mesurades, els tres grups van aprendre de manera similar la nova ubicació. Aquests resultats podrien atribuir-se a què l'aprenentatge en l'adquisició a facilitat el nou aprenentatge en aquesta fase.

En la prova de la **DSO**, no s'han trobat diferències significatives entre grups respecte al temps en trobar el reforçador ni en cometre errors, els tres grups mostraven un patró d'adquisició i record de la tasca molt similar. Aquest resultat, es podria explicar pel fet què és un model de privació de menjar i aquest pot no ser vàlid per mesurar l'efecte de la dieta amb RC. Tot i així, al **Test de la Galeta** si s'han trobat diferències significatives entre grups ($F_{[2,43]}=9.214$, $p<0.001$) respecte al temps en trobar la galeta, entre les Young i les Old_AL ($p=0.001$), les Young trigaven menys temps (veure Figura 4), indicant que la dieta amb RC redueix el declivi de la funció olfactiva característic de la vellesa.

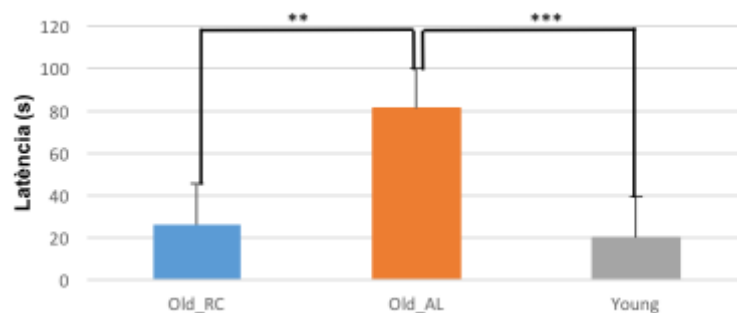


Figura 4. Mitjana (+EE) de la latència en trobar la galeta dels 3 grups experimentals en el Test de la Galeta. ** $p<0,01$ *** $p<0,001$.

Actualment podem afirmar que hi ha evidències que la dieta amb RC allarga l'esperança de vida i preveu l'aparició de patologies però amb els resultats actuals encara no hi ha conclusions clares sobre en quina mesura beneficia a la funció cognitiva. Per això caldria més investigació, estudiant el seu efecte amb diferents proves conductuals. Això seria important, perquè uns resultats positius comportarien un pas més enllà en la prevenció de les malalties neurodegeneratives, malalties greus amb un fort impacte emocional en la societat, també reduint el deteriorament cognitiu típic de la vellesa i millorant la qualitat de vida d'aquestes persones.

Número de paraules: 1798.

La dieta hipocalòrica redueix el risc a patir malalties neurodegeneratives i millora la memòria durant l'envelliment

- Actualment l'Alzheimer té una prevalença del 50% en adults majors de 85 anys.
- La dieta hipocalòrica redueix el deteriorament cognitiu típic de la vellesa i preveu el desenvolupament de malalties neurodegeneratives.

L'envelliment cerebral és un procés que es caracteritza per canvis fisiològics i morfològics a nivell cerebral que es donen en totes les espècies de mamífers. Aquests canvis comporten un deteriorament progressiu de les funcions cognitives, sobretot de l'aprenentatge i la memòria, degut a l'afectació d'estructures com l'hipocamp i l'escorça prefrontal. Estudis neuroanatòmics i neurofisiològics de cervells envellits han demostrat una disminució del volum cerebral, de les connexions sinàptiques, de la generació de noves neurones i de la plasticitat sinàptica, degut a una alteració dels gens relacionats amb la plasticitat neuronal en resposta a mutacions en el DNA i a l'estrès oxidatiu. Aquestes alteracions típiques de la vellesa suposen el principal factor de risc pel desenvolupament de malalties neurodegeneratives com la malaltia d'Alzheimer. Per aquest motiu, investigar els diferents factors que podrien alentar aquest procés suposa un repte per la neurociència actual.



Diferència entre cervell sa i cervell envellit

En aquesta línia, des del laboratori de Psicobiologia de la Universitat Autònoma de Barcelona, es va iniciar una investigació amb l'objectiu d'estudiar els possibles efectes beneficiosos de la dieta hipocalòrica en l'aprenentatge i la memòria en rates envellides, ja que aquesta és l'única intervenció coneguda que augmenta l'esperança de vida i té efectes beneficiosos sobre les funcions cerebrals i les patologies degeneratives.

A partir d'aquest estudi s'ha pogut demostrar que la ingesta al llarg de la vida d'una dieta hipocalòrica no facilita l'aprenentatge però sí que millora el seu record. Els estudis realitzats entorn aquesta temàtica són encara insuficients tot i que, fins al moment, s'han obtingut resultats en aquesta mateixa direcció que posen en evidència que la dieta amb restricció calòrica podria actuar com a factor protector davant el deteriorament cognitiu típic d'aquesta etapa de la vida millorant el funcionament cerebral i reduint el risc a patir malalties neurodegeneratives.

La informació d'aquest estudi constitueix un avanç important ja que proporciona un mètode que potencia l'envelliment saludable. Aquest descobriment és de gran rellevància en l'actualitat ja que des de mitjans del s. XX, degut als avenços mèdics que s'han anat produint, hi ha hagut una disminució de la mortalitat. Aquesta situació ha provocat un augment de la població senil i, conseqüentment, un increment de la prevalença de malalties neurodegeneratives. Aconseguir alentir el deteriorament cognitiu permetria prevenir el desenvolupament d'aquestes malalties i millorar la qualitat de vida de les persones.

Número de paraules: 418.

Una dieta baixa en calories aporta beneficis a la memòria en l'envelliment



Els canvis que durant l'envelliment sofreixen les àrees cerebrals implicades en la memòria, es podrien reduir amb una dieta en restricció calòrica.

Actualment, donat als grans avenços mèdics, l'esperança de vida s'ha anat incrementant i, amb això també ha augmentat la població senil. **El procés d'envelliment s'acompanya típicament de deteriorament cognitiu** i, avui dia, l'envelliment és el principal factor de risc de patir malalties neurodegeneratives, com l'Alzheimer. Aquest deteriorament, ve acompanyat d'**alteracions en l'aprenentatge i la memòria**. Concretament es produeixen canvis a l'hipocamp i el còrtex prefrontal, dues àrees cerebrals implicades en aquestes funcions cognitives. Aquests canvis es deuen, principalment, a què amb l'edat es redueix l'expressió dels gens involucrats en la plasticitat sinàptica, fenomen imprescindible per als processos d'aprenentatge i memòria. La gravetat i l'alta prevalença d'aquestes malalties neurodegeneratives, el 50% dels majors adults de 85 anys, causen un gran impacte en la població fent-se imprescindible la investigació per trobar les causes i possibles maneres de prevenir o curar.

En el laboratori de Psicobiologia del Departament de Psicobiologia i Metodologia de les Ciències de la Salut de la Universitat Autònoma de Barcelona, s'ha dut a terme un estudi amb l'objectiu de conèixer si una dieta amb restricció calòrica, és a dir, una dieta amb reducció del consum de calories sense alterar l'aportació de nutrients essencials, pot actuar com a factor protector davant el declivi cognitiu de la vellesa. Per a la realització d'aquest estudi, es va comptar amb tres grups experimentals de rates, un grup envellit amb dieta amb restricció calòrica, un grup envellit en *Ad Libitum* i, un grup control de rates joves. Aquests grups van realitzar dues proves conductuals, el Laberint Aquàtic de Morris i la prova de Discriminació Simple d'Olor, que permeten avaluar aprenentatge i memòria. Els resultats obtinguts, fan evidents el deteriorament cognitiu que es sofreix en la vellesa, donat que les rates joves van fer un aprenentatge significativament més ràpid que les velles i els dos grups de rates velles van aprendre de manera similar. No obstant això, durant les

fases de record, les rates amb dieta amb restricció calòrica van obtenir resultats similars a les joves, i millors que els de les rates en Ad Libitum. Per tant, sembla que **una dieta amb restricció calòrica presenta beneficis, pel que fa a la memòria, retardant el declivi cognitiu de l'envelliment.**

Aquests resultats mostren que la dieta pot ser un factor important per a contribuir a una millor qualitat de vida en la vellesa, donat que el deteriorament cognitiu pot agreujar-se amb el temps i aquest, sol acompanyar-se de malestar psicològic. Moltes vegades, la prevenció és l'única via de no patir malalties al no existir actualment tractaments curatius, només pal·liatius. Per tot això, **és convenient continuar investigant en relació a la restricció calòrica**, per tal de determinar millor els seus beneficis. Seria interessant, també, futures investigacions centrades en els inadequats hàbits alimentaris, que promou l'actual estil de vida, per tal de conèixer si hi ha impacte en el declivi cognitiu a la vellesa.

Número de paraules: 499.